Volume 12 ANNALES DE TECHNOLOGIE AGRICOLE 1963 N° hors série I

CENTENAIRE DES ÉTUDES DE PASTEUR SUR LE VIN

SYMPOSIUM INTERNATIONAL D'ŒNOLOGIE

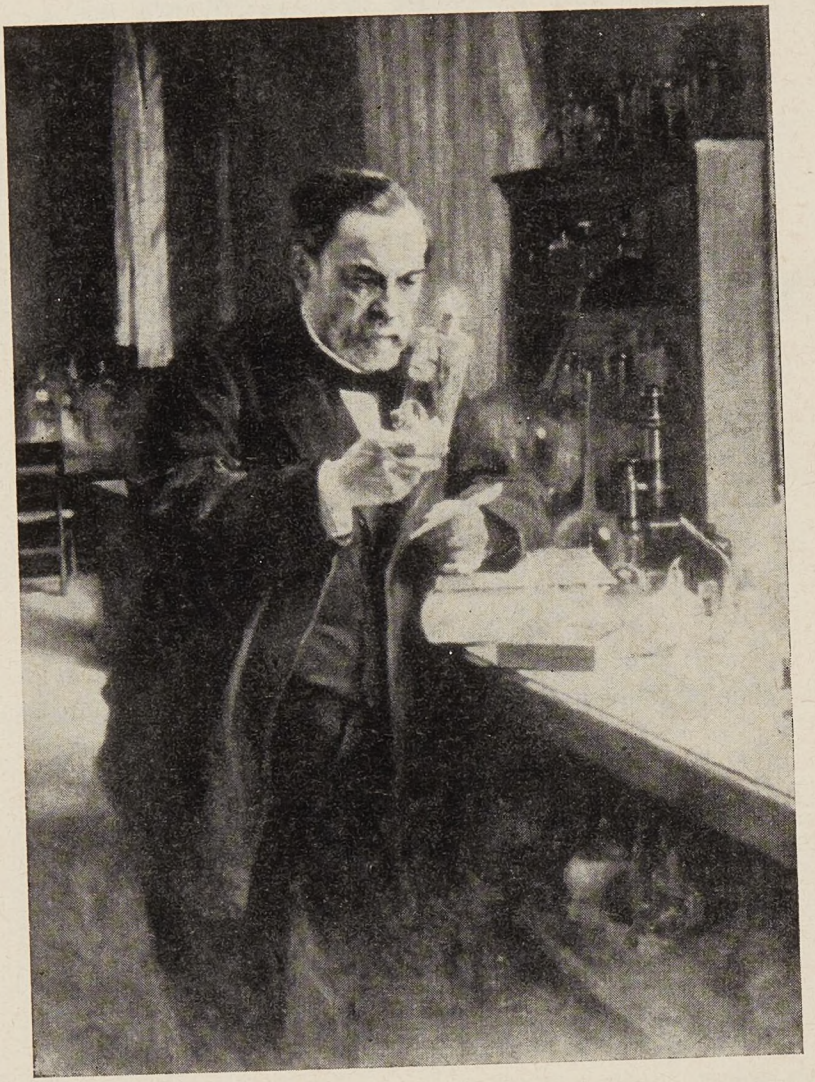
BORDEAUX, 10-15 Juin 1963

Sous le patronage
de l'Office international de la Vigne et du Vin
et de la Commission internationale des Industries agricoles

Avec la collaboration
de l'Institut Technique du Vin

PROCÉDÉS NOUVEAUX DE CONSERVATION DES VINS THÉORIE, PRATIQUE, RÉGLEMENTATION

Ministère de l'Agriculture — Université de Bordeaux
STATION AGRONOMIQUE ET ŒNOLOGIQUE DE BORDEAUX
351, cours de la Libération, TALENCE (Gironde)



PASTEUR dans son Laboratoire
de l'École Normale Supérieure, par EDELFELT.

COMITÉ D'HONNEUR

M. le Maire de Bordeaux, Président de l'Assemblée Nationale.
M. le Préfet de la Gironde, Inspecteur Général de l'Administration en Mission extraordinaire.
M. le Président du Conseil Général de la Gironde.
M. le Directeur Général de l'Enseignement Supérieur.
M. le Directeur Général de la Production du Ministère de l'Agriculture.
M. le Recteur de l'Académie de Bordeaux.
M. le Doyen de la Faculté des Sciences de Bordeaux.
M. le Doyen de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux.
M. le Doyen de la Faculté de Droit de Bordeaux.
M. le Doyen de la Faculté des Lettres de Bordeaux.
M. le Directeur de l'Institut National de la Recherche Agronomique.
M. le Directeur du Service de la Répression des Fraudes.
M. le Président de la Chambre de Commerce et d'Industrie de Bordeaux.
M. le Président de la Chambre d'Agriculture de la Gironde.
M. le Président de la Fédération des Associations Viticoles.
M. le Président de l'Institut National des Appellations d'Origine.
M. le Président de l'Institut des Vins de Consommation Courante.
M. le Président de l'Union Nationale des Œnologues.
M. le Directeur des Services Agricoles de la Gironde.
M. le Président du Conseil Interprofessionnel du Vin de Bordeaux.
M. le Président du Conseil Interprofessionnel des Vins de la Région de Bergerac.

M. le Professeur Louis PASTEUR VALLERY-RADOT,
de l'Académie Française et de l'Académie de Médecine.
M. le Professeur Maurice LEMOIGNE,
de l'Académie des Sciences et de l'Académie d'Agriculture,
Chef de Service honoraire à l'Institut Pasteur.
M. le Professeur Georges CHAMPETIER,
de l'Académie des Sciences,
Président de l'Association d'Etude pour l'Expansion de la Recherche scientifique.
M. le Professeur Jacques TREFOUEL,
de l'Académie des Sciences et de l'Académie de Médecine,
Directeur de l'Institut Pasteur.
M. le Professeur René DUJARRIC DE LA RIVIÈRE,
de l'Académie des Sciences et de l'Académie de Médecine,
Sous-Directeur honoraire de l'Institut Pasteur.

COMITÉ D'ORGANISATION

M. J. RIBÉREAU-GAYON, Président.
Professeur à la Faculté des Sciences,
Directeur de la Station Agronomique et Œnologique de Bordeaux.

M. E. PEYNAUD, Vice-Président.
Chef du Service des Recherches de la Station Agronomique et Œnologique de Bordeaux.

M. R. CASSIGNARD, Secrétaire,
Conseiller de l'Institut Technique du Vin,
Chef de Service à la Station Agronomique et Œnologique de Bordeaux.

M. V. LASSALLE-SAINT-JEAN, Secrétaire,
Expert-Chimiste.

M. P. SUDRAUD, Trésorier,
Chef de Service à la Station Agronomique et Œnologique de Bordeaux.

Membres :

MM. R. BARRIÈRE,
Président de la Commission de l'Agriculture du Conseil Général de la Gironde.

J. DAVID,
Secrétaire de la Chambre d'Agriculture.

R. DAVID,
Professeur à la Faculté des Sciences de Bordeaux.

L. GENEVOIS,
Professeur à la Faculté des Sciences de Bordeaux.

P. GUILLOT DE SUDUIRAUT,
Président de la Section Régionale de l'Institut Technique du Vin (Section bordelaise).

E. KRESSMANN,
Membre du Bureau du Conseil Interprofessionnel du Vin de Bordeaux.

L. LEVADOUX,
Directeur de la Station de Recherches de Viticulture du Centre de Recherche Agronomique du Sud-Ouest.

J. LOUSTAUNAU DE GUILHEM,
Ingénieur responsable du Service Œnologique de l'Institut Technique du Vin.

R. MARCARD,
Président du Comité d'organisation du Premier Congrès International de la Vigne et du Vin, Bordeaux, juin 1928.

J. MASQUELIER,
Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux.

P. RIBÉREAU-GAYON,
Chargé de cours à la Faculté des Sciences de Bordeaux,
Directeur de l'Ecole Supérieure d'Œnologie.

R. VIGIER DE GASTON,
Président de la Section Régionale de l'Institut Technique du Vin (Section de la Dordogne).

Le premier Congrès international de la Vigne et du Vin a eu lieu à Bordeaux en juin 1928. Depuis cette date, les spécialistes de l'œnologie n'avaient pas eu l'occasion de se réunir dans cette ville ; sur le plan national seulement, le Colloque annuel d'Œnologie de l'Institut technique du Vin s'est tenu à Bordeaux en juin 1961. La Station œnologique de Bordeaux avait prévu l'organisation d'un Symposium international d'Œnologie en juin 1963, commémorant le Centenaire des Etudes de PASTEUR *sur le vin, et il avait été décidé d'un commun accord que le Colloque annuel de l'Institut technique du Vin coïnciderait avec ce Symposium.*

Il n'est pas nécessaire de rappeler l'importance de l'œuvre de PASTEUR *dans le domaine de l'agriculture et des industries agricoles. Particulièrement, il a consacré à l'étude du vin plusieurs années de son activité scientifique, une dizaine de communications à l'Académie des Sciences, et un ouvrage important ; « Etudes sur le vin. — Ses maladies ; causes qui les provoquent. — Procédés nouveaux pour le conserver et pour le vieillir ». Il a découvert le rôle des levures qui font le vin et celui des « parasites microscopiques » ou « ferments » lactiques qui l'altèrent ; il a étudié le vieillissement ; il a donné de nouvelles méthodes d'analyse ; c'est dans le vin qu'il a découvert les produits secondaires de la fermentation.* PASTEUR *est vraiment le créateur de l'œnologie scientifique (1861-1866).*

Il se trouve que, dans ce domaine du vin, la Station œnologique de Bordeaux a assuré la continuité de l'œuvre pasteurienne. Elle a été fondée sous sa forme actuelle en 1880 par U. GAYON, *qui avait été élève, puis préparateur de* PASTEUR *à l'Ecole Normale supérieure, et avait préparé sa thèse dans son laboratoire. Doyen de la Faculté des Sciences, professeur de Chimie organique, fondateur de l'Ecole de Chimie appliquée à l'industrie et à l'agriculture,* U. GAYON *a dirigé la Station œnologique pendant quarante années. Il lui a donné une large audience internationale en améliorant les conditions de l'élaboration et de la conservation des vins de qualité, les méthodes d'analyse du vin, et en participant avec son collègue* A. MILLARDET, *professeur de Botanique à la Faculté des Sciences, à la mise au point de la formule et du mode d'emploi de la « Bouillie bordelaise » dans le traitement du mildiou de la vigne.*

On sait que toute l'œuvre de PASTEUR *constitue un remarquable exemple de la fécondité, à la fois sur le plan théorique et sur le plan pratique, d'une liaison étroite entre la science et la technique, tout particulièrement de la liaison Université-Agriculture, objet aujourd'hui de préoccupations si souvent exprimées.*

C'est dans cet esprit qu'a été organisé et que s'est déroulé le Symposium international avec le thème suivant ; « Procédés nouveaux de conservation des vins ; théorie, pratique, réglementation ». Les différentes questions relatives à ce thème ont été exposées par des spécialistes des différents pays, dont chacun a apporté une mise au point aussi précise et aussi à jour que possible d'un sujet qui avait déjà fait de sa part l'objet d'études

approfondies. Il n'était pas prévu de communications libres, mais les sujets traités pouvaient faire l'objet d'interventions, préparées à l'avance, et de discussions en cours de séance sous forme de questions précises posées aux rapporteurs et de réponses. On trouvera dans ces comptes rendus le texte intégral des vingt-six rapports présentés, des interventions et de la discussion ; le résumé de chaque rapport est donné en cinq langues.

L'Institut national de la Recherche agronomique a apporté une participation active au Symposium en présentant plusieurs rapports et en assurant la publication des travaux.

Plus de cinq cents personnes, représentant vingt-neuf pays, étaient inscrites au Symposium. Les six séances de travail se sont déroulées devant un auditoire assidu de plus de quatre cents participants, comprenant à côté des œnologistes spécialisés dans la recherche, des techniciens-œnologues ou des professionnels avertis.

SÉANCE D'OUVERTURE

DISCOURS D'OUVERTURE

G. DALMASSO

Doyen honoraire de la Faculté Agronomique de l'Université de Turin,
Président de l'Académie Italienne de la Vigne et du Vin,
Président d'honneur du Symposium

Lorsque, en juillet de l'année passée, mon illustre collègue, Monsieur le professeur Jean RIBÉREAU-GAYON, m'a écrit pour m'offrir la Présidence d'honneur de ce Symposium international, j'ai cru de mon devoir de lui répondre que tout en me sentant extrêmement honoré de son offre — que je considère comme « une preuve précieuse de son amabilité et amitié et de celle de ses collègues » — je ne voyais en moi rien qui me permette de mériter cette marque d'estime.

Je lui disais : « J'ai trop de vénération pour la grande figure de Louis PASTEUR et pour ses « *Etudes sur le vin* » — dont j'estime un exemplaire de la 2e édition, de 1873, l'une des pièces les plus précieuses de ma bibliothèque personnelle — pour oser accepter la Présidence du Symposium que vous avez décidé d'organiser à l'occasion du centenaire de cette œuvre fondamentale pour l'histoire de l'Œnologie mondiale » et il m'aurait suffi d'assister en simple observateur aux séances sans y prendre la parole.

J'ajoutais enfin, dans ma réponse à M. RIBÉREAU-GAYON : « Je crois que personne n'est plus digne que vous de présider le Symposium ».

On a voulu tout de même m'offrir la Présidence d'honneur du Congrès et je n'ai pu que m'incliner devant ce nouveau témoignage de bienveillance et de sympathie que je dois considérer comme adressé à mon pays — l'antique *Enotria tellus* — et à l'Académie Italienne de la Vigne et du Vin, dont j'ai le privilège et la charge d'être le Président.

Pour justifier de quelque façon mon acceptation du titre, bien au-dessus de mes mérites, de Président d'honneur de ce Symposium, je désire encore invoquer comme circonstance atténuante le fait que ma vénération pour Louis PASTEUR et son œuvre remonte aux années — hélas bien éloignées — de ma jeunesse, lors de mon initiation aux études de viticulture et d'œnologie.

C'est en effet dans le lointain 1905 — il y a presque soixante ans de cela — qu'à l'Ecole de Viticulture et d'Œnologie d'Alba on me donnait comme thème de mon examen de diplôme une comparaison entre les théories sur la fermentation de LIEBIG et celles de PASTEUR, ces théories que mon premier Maître, le professeur Livio SOSTEGNI, m'avait illustrées avec passion et clarté.

La chaleur et l'enthousiasme juvénile que je mis à développer ce thème me valurent la récompense — dont le souvenir me touche encore — de le faire juger digne d'être publié dans la revue de mon Ecole.

J'ai voulu exhumer ce souvenir déjà si lointain — et je vous prie de vouloir m'excuser si, dans une circonstance si solennelle, je me suis permis d'évoquer un détail aussi modeste que personnel — seulement en témoignage, je le répète, de l'ancienneté de mon admiration pour ces études pasteuriennes dont nous célébrons ici le centenaire.

Cette admiration — alors et toujours très vive en Italie — était partagée chez nous par les plus brillants esprits de la fin du siècle ; il fut un temps (les tristes années 1870-71) où l'on fit à PASTEUR des offres pressantes pour qu'il accepte une chaire universitaire à Milan ou à Pise, offres qu'il refusa en des termes qui témoignent de la noblesse et de la grandeur de son âme.

Il écrivait à un italien du Frioul, le professeur CHIOZZA, qui insistait pour le faire venir à Milan : « Je croirais commettre un crime et mériter la peine des déserteurs si j'allais chercher, loin de ma patrie dans le malheur, une position matérielle meilleure que celle qu'elle peut m'offrir. »

Et, en terminant sa lettre de refus et de remerciement à M. TOSCANELLI, un député qui lui avait fait offrir la chaire de Chimie à Pise, PASTEUR ajoutait que le souvenir de cet offre resterait dans les annales de sa famille « comme une preuve des sympathies de l'Italie envers la France, comme un gage de l'estime qu'elle accorde à mes travaux ».

Et cette estime il l'éprouvait à son tour bien sincèrement pour nos plus grands savants et, en tout premier lieu, pour Lazzaro SPALLANZANI qui, un siècle avant lui, avait démontré par l'expérimentation, combien était peu fondée la théorie de la génération spontanée — du moins sous la forme dont on la concevait alors — et que PASTEUR jugeait un des plus grands expérimentateurs qui n'ait jamais paru au monde, l'une des plus pures gloires de l'Italie ; ensuite pour notre Adamo FABBRONI qui, en 1787, publiait à Florence un mémoire sur la « *Théorie physique de la fermentation du vin* » auquel l'Académie Royale des Georgofili décerna un prix et qui fut traduit en français par BAUD et réimprimé à Paris en 1801.

Dans l'introduction à ses « *Etudes sur le vin* » PASTEUR souligne le but que FABBRONI se proposait d'atteindre : « un vin doué des meilleures qualités et principalement de celle d'être propre au transport et susceptible d'une longue conservation ».

Mais, puisque j'ai abordé le sujet des rapports de PASTEUR avec les hommes d'étude italiens, qu'il me soit permis de rappeler un autre Congrès international qui a eu lieu à Milan en 1876 pour résoudre certains problèmes de la sériciculture, très gravement menacée en ces temps par le terrible fléau de la pébrine — les corpuscules de laquelle, c'est-à-dire les spores du *Nosema bombycis*, avaient déjà été découverts par notre CORNALIA — et dont PASTEUR trouva le moyen de nous défendre.

Or, dans le banquet d'adieu de ce Congrès, PASTEUR glorifia « la lutte pacifique de la science » par des expressions que nous pouvons bien répéter ici : « La science n'a pas de patrie, parce que le savoir est le patrimoine de l'humanité, le flambeau qui éclaire le monde ». Non que par ces mots il voulut renier la patrie, car il affirmait, au contraire, que « la science doit être la plus haute personnification de la patrie » et encore « luttons dans le champ pacifique de la science pour la prééminence de nos patries respectives ».

Donc PASTEUR — éclatante gloire de la France — appartient aussi au Monde entier, car peu de savants ont eu, comme lui, pour premier but suprême le bien de l'humanité.

Il n'accepta jamais de se renfermer dans la tour d'ivoire de ses laboratoires et de se limiter à poursuivre des recherches et des découvertes de science pure.

Bien à propos le Comité d'organisation de ce Symposium a voulu souligner que « toute l'œuvre de PASTEUR constitue un remarquable exemple de l'efficacité, à la fois sur le plan théorique et sur celui pratique, d'une liaison étroite entre la science et la technique, tout particulièrement de la liaison Université-Agriculture ».

Et cela en dehors et au-dessus de tout intérêt matériel. Comme tous les grands, les vrais savants, il ne se soucia pas d'exploiter à son propre avantage ses admirables découvertes. Et il est beau de pouvoir rappeler aujourd'hui sa réponse à Napoléon III et à l'Impératrice. Au cours d'un entretien privé avec PASTEUR, comme leurs Majestés impériales s'émerveillaient qu'il ne songeât pas à tirer un profit très légitime de ses travaux et de leurs applications, « En France, répondit PASTEUR, les savants croiraient déméríter en agissant ainsi ».

Malheureusement la leçon de PASTEUR est encore, et partout, trop souvent ignorée !

Le souvenir de la rencontre de PASTEUR avec l'Empereur et l'Impératrice Eugénie — il fut pendant huit jours leur hôte au palais de Compiègne — démontre encore aujourd'hui que les vrais génies savent attirer l'attention des puissants de la terre, mêmes sur des problèmes qui pourraient paraître trop banals pour des milieux mondains.

Non seulement PASTEUR sut fixer l'attention de la Cour sur la théorie des fermentations et sur les maladies des vins, mais, à la requête de l'Empereur et de l'Impératrice, il leur donna une vraie leçon illustrée par des examens au microscope !

Puis, encouragé par l'intérêt impérial, il se mit à l'œuvre pour recueillir en un volume les résultats de ses observations et de ses recherches sur les maladies du vin et les causes qui les provoquent et sur les procédés nouveaux pour le conserver et pour le vieillir.

Et le 5 décembre 1865 il présentait à Napoléon III le nouveau livre dont le texte était précédé par une lettre qui se terminait par ces mots : « Si le temps, juge nécessaire et infaillible de toutes les productions de la science, consacre, comme je l'espère, l'exactitude de mon travail, j'aurais acquis, Sire, la satisfaction la plus enviable pour un savant : celle d'avoir servi utilement mon pays ».

Le temps a rendu justice à PASTEUR en confirmant d'une façon lumineuse l'exactitude de ses intuitions et de ses pénétrantes observations.

Naturellement chaque année qui passe apporte à la Science et à la Technique de nouvelles acquisitions qui permettent d'avancer de quelques pas sur la voie du progrès.

Et que de progrès dans ce dernier siècle !

L'initiative prise par la Station Agronomique et Œnologique de Bordeaux de célébrer le centenaire des études de PASTEUR sur le Vin par un Symposium dédié au thème « Procédés nouveaux de conservation des vins », me paraît très heureuse car justement à la solution de ce problème il avait consacré la troisième partie de son livre.

Il va sans dire que, d'une façon toute particulière dans le domaine des appareils industriels destinés à assurer cette conservation, on a fait des progrès extraordinaires, mais pour ce qui est de ceux qui se basent sur le chauffage du vin nous sommes toujours redevables de l'enseignement de PASTEUR.

Il est intéressant de rappeler ici que dans le chapitre rédigé par RAULIN pour la deuxième édition du livre de PASTEUR, on insiste surtout sur le chauffage du vin en bouteilles, qui dès la première édition était déjà recommandé par PASTEUR.

Aujourd'hui ce moyen pour assurer la bonne conservation des vins est en train d'acquérir de nouvelles sympathies en toute nation viticole, y compris l'Italie.

Le thème choisi pour ce Symposium est donc fondamental et tout à fait actuel, car la recherche de nouvelles techniques pour la conservation du vin, ou pour perfectionner celles qui sont en usage, est d'un intérêt qui touche aussi bien les consommateurs que les producteurs.

Louis PASTEUR a défini le vin : « la plus saine et la plus hygiénique des boissons ».

Si la beauté de cette définition et l'autorité de celui qui nous l'a donnée ne peuvent que nous en rendre orgueilleux, elle engage aussi notre responsabilité, en tant qu'elle nous contraint à respecter de la façon la plus scrupuleuse la valeur hygiénique de ce produit.

Malheur à nous si pour mieux en assurer la conservation nous devions avoir recours à des expédients (tout particulièrement de nature chimique) qui en amoindrissent ou en dénaturent l'intégrité biologique et la valeur tant alimentaire que physiologique !

Je n'ai aucunement l'intention de toucher un seul des sujets qui seront traités pendant les trois jours de ce Symposium par les illustres spécialistes qui viennent des plus importantes régions du Monde où la vigne octroie ses produits admirables : ses raisins, ses jus, ses vins.

Qu'il me soit néanmoins permis d'exprimer, avec l'approbation la plus sincère, la plus vive gratitude aux organisateurs du Symposium — et tout particulièrement à la célèbre Station Œnologique de Bordeaux, qui poursuit si dignement l'œuvre pasteurienne par celle de ses Directeurs et de leurs Collaborateurs — le vœu, plus encore, la certitude que les résultats de ces journées enrichiront le progrès de la viti-viniculture mondiale et que leur succès sera le plus bel hommage que les hommes d'étude et les techniciens du monde entier peuvent rendre à la mémoire du grand PASTEUR.

L'ACTUALITÉ DE PASTEUR

Conférence du professeur J. RIBÉREAU-GAYON

Directeur de la Station Agronomique et Œnologique de Bordeaux (France), Président du Symposium

---

Que toutes les personnalités de notre Université, de notre ville, de notre région, de notre pays qui ont bien voulu faire à la Station Œnologique de Bordeaux et au Comité d'Organisation l'honneur d'assister à cette séance d'ouverture acceptent le témoignage de notre gratitude. Venus d'horizons divers, leur présence donne à notre Symposium tout son sens et toute sa portée.

Je suis persuadé que tous s'associent à moi-même pour exprimer notre reconnaissance, d'abord à notre Président d'Honneur, le Professeur DALMASSO, vénéré de nous tous, et de tous ceux, dans le monde entier, qui ont des attaches avec la vigne et le vin, en outre à Messieurs les Présidents de séances qui n'ont pas hésité à venir jusqu'à nous, de fort loin parfois, pour guider nos travaux, à Messieurs les Rapporteurs enfin qui veulent bien nous faire part de leurs recherches sur des sujets d'actualité ; la Station Œnologique de Bordeaux les en remercie vivement, car ils apportent d'importants éléments à la solution des problèmes théoriques et pratiques qui se posent à elle journellement.

J'exprime mes remerciements à l'Institut Pasteur d'avoir bien voulu nous autoriser à commémorer le Centenaire des Etudes de PASTEUR sur le vin, avec l'approbation de Monsieur le professeur PASTEUR VALLERY-RADOT, dont nous venons de recevoir un télégramme de vœux de succès. Je lui exprime ma bien sincère reconnaissance.

Je remercie l'Office International de la Vigne et du Vin, la Commission Internationale des Industries Agricoles, qui nous ont accordé leur patronage et l'appui de leur autorité, l'Institut technique du vin, dont je suis heureux de saluer respectueusement le Président, M. DE VERNEJOUL. Cet organisme continue avec nous, à l'occasion de ce Symposium, une ancienne et précieuse collaboration.

Que l'on me permette enfin d'adresser publiquement à M. PEYNAUD, mon collaborateur de trente-cinq années, si attaché à la science des fermentations et à la science du vin, ma reconnaissance affectueuse pour l'organisation des travaux scientifiques du Symposium, dont il a été l'animateur intelligent et dévoué.

***

L'actualité de PASTEUR, il ne s'agit évidemment pas des connaissances que nous lui devons. Nécessairement, elles sont aujourd'hui dépassées. Il s'agit de sa méthode, de certains aspects de sa méthode de travail, qui sont toujours valables et souvent méconnus, dont il est par conséquent très actuel de parler.

A l'occasion du Centenaire de sa naissance, en 1922, l'Institut Pasteur a publié une monographie de ses travaux. La première page montre bien que cet ouvrage est publié sous l'égide de l'Institut Pasteur. La seconde page résume l'œuvre de PASTEUR sous les titres suivants :

1847. Dissymétrie moléculaire
1857. Fermentations
1862. Générations dites spontanées
1863. Etudes sur le vin
1865. Maladies des vers à soie
1871. Etudes sur la bière
1877. Maladies virulentes
1880. Virus-Vaccins
1885. Prophylaxie de la rage.

Tels sont donc les titres sous lesquels ont été rassemblés, par l'Institut Pasteur lui-même, les principales découvertes de PASTEUR. Nous lisons bien : 1863. *Etudes sur le vin* ; il y a exactement cent ans.

La deuxième édition des Etudes sur le vin est de 1872. L'exemplaire qui se trouve à la Station œnologique porte une dédicace de PASTEUR au directeur de la Station ; elle témoigne des liens qui unissent l'œnologie bordelaise à l'école pasteurienne.

On voit que les trois premiers groupes de travaux constituent essentiellement de la recherche pure ou fondamentale, c'est-à-dire à objectif théorique, désintéressée. Les travaux de cristallographie de PASTEUR, qui ont fondé la stéréochimie, sont les plus théoriques et les plus beaux sans doute à l'égard de la science pure.

Au contraire, les six derniers groupes ont essentiellement des objectifs pratiques, comme l'indiquent leurs désignations mêmes, et ne constituent généralement pas de la recherche pure. Ils constituent de la recherche appliquée, en donnant à ce mot le sens, récemment proposé, de recherche dont le but visé consciemment consiste dans une possibilité concrète de servir l'humanité dans l'un de ses besoins, par exemple ici, dans le domaine de la santé ou de l'agriculture.

Il faut toutefois remarquer qu'il ne s'agit pas de simples applications des données acquises de la science pure, chimie ou biologie ; ce n'est pas une recherche superposée, appliquée sur une autre ; ce sont des travaux originaux, autonomes. On pourrait parler à leur endroit de recherche œnologique, de recherche agronomique, de recherche médicale. On pourrait parler de recherche pratique, abréviation de recherche scientifique à objectif pratique. Souvent on pourrait parler de recherche technique.

Un de mes propos sera, en m'appuyant sur l'exemple de PASTEUR, de montrer que la recherche appliquée, d'une part est toujours de la recherche scientifique authentique, d'autre part comporte une collaboration avec l'empirisme.

Je veux répondre aussitôt à l'objection, qui peut venir à l'esprit, selon laquelle ce serait diminuer PASTEUR que de parler d'empirisme à son égard, voire même que

ce serait un contresens que de parler de l'actualité d'une méthode comportant une part d'empirisme, puisque le progrès consiste précisément dans le passage de l'empirisme à la science. Même en écartant le sens franchement péjoratif que l'on donne parfois à ce mot, il est certain qu'aux yeux de beaucoup la méthode empirique s'oppose complètement à la méthode scientifique. Pourtant, il y a dans l'empirisme, mode d'acquisition des connaissances par l'expérience seule, sans raisonnement au sens où l'entend le scientifique, quelque chose de légitime et d'ailleurs d'inévitable dans les sciences expérimentales, et d'autant plus qu'elles sont plus soucieuses d'application.

***

Nous allons projeter un tableau bien connu d'EDELFELT, le « PASTEUR dans son Laboratoire de l'Ecole normale » à l'époque de ses études sur la rage, en 1885, dont je dois le diapositif en couleurs, à l'Institut Pasteur, ainsi que les diapositifs des pièces du Musée Pasteur se rapportant aux études sur les fermentations et sur le vin. Je lui exprime mes très vifs remerciements.

Cette toile, qui se trouve dans la salle à manger où PASTEUR recevait ses élèves, est très connue, mais je voudrais la commenter.

Tout d'abord sur l'exécution de ce tableau, René VALLERY-RADOT nous apprend ceci : « PASTEUR, sans s'inquiéter du peintre, allait et venait, prenait des notes, examinait des tubes de cultures. Un jour qu'EDELFELT le voyait ainsi en pleine observation, le front marqué de plis presque douloureux, il comprit qu'il n'avait qu'à rendre le savant dans son attitude méditative. PASTEUR tient de la main gauche une fiche d'expériences, de la main droite un flacon qui renferme un fragment de moelle rabique. Le regard se concentre sur le problème scientifique à résoudre ».

D'autre part, je citerai deux textes qui me paraissent exprimer avec beaucoup de vérité la démarche du savant, illustrée par ce PASTEUR plongé dans la contemplation d'un flacon. La première est de BERGSON, extraite du discours prononcé au Collège de France en 1913, à l'occasion du Centenaire de Claude BERNARD : « La recherche scientifique est un dialogue entre l'esprit et la nature. La nature éveille notre curiosité ; nous lui posons des questions ; ses réponses donnent à l'entretien une tournure imprévue, provoquant des questions nouvelles auxquelles la nature réplique en suggérant de nouvelles idées, et ainsi de suite indéfiniment ».

L'autre citation est de Jean GUITTON, professeur de philosophie à la Sorbonne, qui exprime une idée analogue dans des termes que nous lisons en même temps sur les traits de PASTEUR : « En vérité, ce qui seul (dans l'effort intellectuel) mériterait d'attirer l'attention, c'est le *fait* éclairé par une *idée* ; c'est l'*idée* incarnée dans un *fait* ». (Le fait c'est le flacon renfermant un fragment de moelle innoculée avec le virus de la rage ; il est aussi dans la fiche d'expériences ; l'idée est dans l'expression du visage). L'important est donc le fait éclairé par une idée, et l'idée incarnée dans un fait.

Et GUITTON ajoute : « Tout l'esprit des sciences est là... L'effort git dans une zone médiane qui est celle où l'*idée* descend de son séjour pour s'incarner dans un détail, dans un cas, dans une concrétude, qui est aussi, et inversement, celle où le *donné* (le flacon et la fiche d'expériences) appelle l'idée, dans laquelle il prend un sens. Ces deux mouvements de montée et de descente sont la respiration de l'intelligence ».

Ce double mouvement de l'esprit, de l'idée vers le fait et du fait vers l'idée, qui est l'essence même de la recherche expérimentale, ce dialogue entre l'esprit et la nature, PASTEUR l'a vécu avec intensité et le peintre finlandais EDELFELT l'a exprimé avec vérité.

***

Et voici où je veux en venir. Cette toile nous donne donc l'image d'un authentique savant et l'expression du plus authentique effort de recherche scientifique. Or de quelle recherche s'agit-il ? Je l'ai dit : il ne s'agit pas de recherche pure, dans le sens où nous l'entendons, mais de recherche appliquée ou de recherche pratique, qui n'en demeure pas moins de la recherche scientifique et qui exige le même effort et le même mouvement de l'esprit que la recherche pure.

Dans l'étude de la rage, et plus généralement de l'immunité et de la vaccination à cette époque, le but est pratique, la méthode est pour une part empirique, nécessairement puisque PASTEUR ne pouvait pas comprendre les mécanismes. Sur ces mécanismes d'ailleurs il fit successivement plusieurs hypothèses ; il constata lui-même que les premières étaient contraires à certains faits et les abandonna ; mais sa dernière hypothèse est assez proche des conceptions modernes, et on a pu le considérer comme le fondateur de l'immunologie. En fait, les études de PASTEUR sur la rage qui, je le répète, ne constituent pas de la recherche fondamentale, se sont révélées d'un intérêt théorique et général beaucoup plus grand qu'il ne semblait.

Elles ont eu une portée très générale, car il était établi que le pouvoir pathogène des virus pouvait être modifié par des artifices de laboratoire, et on allait pouvoir, selon les mêmes principes, immuniser l'homme contre d'autres maladies infectieuses beaucoup plus répandues que la rage. Elles ont eu une grande portée théorique parce qu'il était établi que l'immunité pouvait être créée avec des germes de maladie vivants atténués ; il était établi que des microorganismes provoquent, non seulement la maladie, mais aussi l'immunité de l'organisme contre la maladie.

Ainsi des recherches poursuivies dans un but pratique, en apparence limité, ont eu en fait une portée théorique et une portée pratique extraordinairement étendues. PASTEUR a su remarquablement associer, joindre l'une à l'autre, la recherche pure et la recherche appliquée. Professeur à la Faculté des Sciences de Strasbourg, puis à la Faculté des Sciences de Lille, enfin à l'Ecole Normale supérieure, il assurait simultanément et efficacement les deux ordres de recherche, théorique et pratique.

Telle est une grande leçon qu'il nous donne. Et dans cet esprit, comme par amplification progressive d'un levain, il a créé un centre d'où sont sortis au cours de ce siècle presque tous les prix Nobel français de médecine.

Cela ne veut absolument pas dire, il faut insister aussi sur ce point, que tous les hommes de science doivent mettre en œuvre cette méthode de PASTEUR, cette conjugaison de recherche pure et de recherche appliquée, de recherche théorique et de recherche pratique, ou si l'on veut de science et d'empirisme, mais seulement, ce qui est très différent, que certains d'entre eux doivent le faire, que cette méthode de travail doit avoir sa place dans les grands établissements scientifiques, à côté de la recherche pure, parce qu'elle est de la recherche authentiquement scientifique et authentiquement efficace.

Regardons le tableau d'EDELFELT qui exprime l'attitude méditative du savant, le dialogue avec la nature qui est l'essence même de la recherche scientifique, le double

mouvement de l'idée au fait et du fait à l'idée. PASTEUR ne faisait pas là de la science pure ; il recherchait une méthode de traitement de la rage ; son objectif était pratique. Dire que la science à objectif pratique, celle qui nécessairement se mêle le plus d'empirisme, n'est pas de la science, serait dire que le PASTEUR d'EDELFELT étudiant la rage dans son laboratoire de l'Ecole Normale n'est pas un savant, n'est pas un chercheur.

***

Dans l'histoire de nos connaissances sur la fermentation et la vinification, PASTEUR marque une étape importante et caractéristique.

L'homme passe de l'empirisme à la science par l'organisation du savoir appuyée sur le raisonnement, par l'expérimentation méthodique, par l'analyse de plus en plus approfondie des phénomènes. C'est bien dire que ce passage est une évolution, que par conséquent, dans l'historique d'une science, on est contraint d'utiliser ce terme d'empirisme, et de constater que certains hommes de science ont occupé dans cette évolution une situation intermédiaire, ont réalisé une étape.

D'une manière caractéristique PASTEUR a été dans la seconde partie de son activité scientifique l'un de ces hommes. Il a su joindre, associer la méthode empirique et la méthode scientifique, en même temps précisément qu'il a su associer la recherche pure et la recherche appliquée ou, si l'on veut, la recherche théorique et la recherche pratique. Je voudrais essayer de montrer en quoi consiste chez PASTEUR cette conjugaison, constituant une étape dans la voie du progrès.

PASTEUR a établi que les fermentations, celles qui, dans une certaine industrie, sont utiles et celles qui sont nuisibles, sont liées à la vie et à la multiplication de microorganismes, sont donc des transformations corrélatives de la vie, sont des « phénomènes vitaux » selon son expression ; et il s'en tient là ; à titre provisoire cette explication lui suffit. « L'acte chimique de la fermentation, dit-il, est essentiellement un phénomène corrélatif d'un acte vital... Maintenant en quoi consiste pour moi l'acte chimique du dédoublement du sucre (en alcool et gaz carbonique) et quelle est sa cause intime ? J'avoue que je l'ignore complètement ? (*Œuvres de Pasteur*, tome II, page 77).

PASTEUR analyse les phénomènes qui se déroulent dans une fermentation, mais il arrête l'effort d'analyse à un certain degré d'explication. Il n'entend pas le langage de ses contemporains, LIEBIG, BERTHELOT, Claude BERNARD, qui dans des discussions mémorables lui disent, ce qui est aujourd'hui bien évident : « Votre expression phénomène vital masque un phénomène chimique qu'il s'agit de découvrir ». Ou plutôt PASTEUR leur répond que la cause intime de la fermentation est une autre question fort distincte de celle sur laquelle ils ne sont pas d'accord. Et il ajoute avec beaucoup de vérité : « La science vit de solutions successives données à des pourquoi de plus en plus subtils, et de plus en plus rapprochés de l'essence même des phénomènes » (*Œuvres de Pasteur*, tome V, page 256). En d'autres termes la science analyse les phénomènes bruts d'une manière de plus en plus détaillée, mais ne saurait parvenir d'emblée aux phénomènes les plus élémentaires.

C'est parce qu'il s'en tenait à l'aspect biologique, parce qu'il négligeait l'aspect chimique, dans un domaine et à une époque où il était encore impossible de rattacher les faits à une explication chimique, que PASTEUR a découvert l'intervention des levures qui font le vin et celle des bactéries qui l'altèrent, comme il a découvert plus tard l'intervention des microorganismes dans les maladies humaines. Ceux qui à

cette époque voulaient à tout prix une explication chimique de la fermentation ne pouvaient aboutir qu'à des théories inexactes, masquant les grandes conclusions possibles, et dépourvues de toute portée pratique. A l'époque de PASTEUR on ne faisait pas autre chose que répéter, après deux cents ans, à très peu près dans les mêmes termes, la théorie de STAHL, l'auteur de la conception du phlogistique.

Il est bien évident qu'il fallait reconnaître l'existence et le rôle des microorganismes avant d'étudier leur fonctionnement. Et ce fut là le mérite de PASTEUR, le mérite de sa méthode qui cherchait l'explication des choses, comme doit le faire un scientifique, mais qui arrêtait l'effort d'explication, l'effort d'analyse au moment où il jugeait impossible ou inefficace de le poursuivre. La manière dont PASTEUR abordait ces problèmes comportait un certain compromis entre science et empirisme, donc une certaine part d'empirisme voulu, que l'on n'a pas toujours souligné et qui est un élément de son succès.

Pourquoi d'ailleurs donner à ce terme d'empirisme un sens péjoratif ? L'empirisme n'est-il pas, en un certain sens, l'« esprit de finesse », qui est capable de découvrir des relations que l'« esprit de géométrie » n'est pas en mesure ou n'est pas encore en mesure de découvrir.

M. LEVADOUX, qui dirige à Bordeaux la Station de Recherches de Viticulture, écrivait : « Nous regretterons avec PASCAL que les hommes soient trop exclusifs et aient tendance à recourir presque uniquement soit aux méthodes empiriques, soit aux méthodes géométriques, alors que certaines données ne peuvent être comprises qu'avec l'esprit de finesse et qu'il est des démonstrations qui ne peuvent être le fait que du raisonnement scientifique... Il est nécessaire (en l'espèce, pour construire une ampélographie vraiment scientifique) de faire tour à tour appel à l'esprit de finesse et à l'esprit de géométrie ».

Pour construire une science expérimentale, il est nécessaire de faire tour à tour appel à l'esprit de géométrie, c'est-à-dire au raisonnement, à la logique, et à l'esprit de finesse, c'est-à-dire à l'empirisme, à l'intuition. Dans le sens que nous avons donné à ces termes, il n'y a pas antinomie entre science et empirisme, il y a complémentarité.

*
* *

On pourrait dire davantage. PASTEUR nous donne une expression vivante de la vraie nature des relations entre science et technique et il nous enseigne la manière de les conjuguer, car cette part d'empirisme voulu, plutôt même instinctive, est aussi une composante de toute technique.

La technique, ensemble de procédés, s'appuie sur la science, ensemble coordonné et raisonné de connaissances, mais pour une part seulement, et pour une autre part la technique s'appuie sur l'empirisme, sur l'expérience brute, sans intervention de la théorie. La technique résulte d'un complexe d'empirisme et de science, de science authentique mais non pas exclusive.

Ainsi la métallurgie a existé bien avant la chimie, la savonnerie a précédé de beaucoup la connaissance du mécanisme de la saponification, de la composition chimique et du mode d'action du savon, la brasserie a existé bien avant la microbiologie et la biochimie des fermentations. L'histoire est très claire : partout les données scientifiques sont venues s'insérer dans ce qui existait.

L'empirisme n'envisage que les phénomènes bruts, complexes, tels que la trans-

formation de raisins écrasés en vin ou l'altération d'un vin exposé à l'air. La science des fermentations au contraire décompose ces phénomènes bruts et complexes en phénomènes plus simples et plus généraux. Plus la science pénètre dans le détail des phénomènes, de leur nature et de leurs conditions, plus les lois et relations qu'elle formule sont précises et générales, plus elle est de la science fondamentale ou science pure. Celle-ci se situe donc essentiellement au niveau des phénomènes élémentaires. Par contre l'action sur la nature, la technique se situe au niveau des phénomènes bruts, concrets ; ce sont eux qui intéressent l'homme ordinaire, par lesquels il agit sur la nature ou la subit. Ce qui intéresse l'homme ordinaire, le praticien, ce sont les phénomènes visibles et non les phénomènes élémentaires auxquels il est insensible directement.

Tandis que le rôle de la science pure est d'analyser les phénomènes le plus possible, de s'intéresser aux phénomènes les plus élémentaires, sans souci d'application, le rôle de la science appliquée est d'analyser les phénomènes bruts qui intéressent directement l'homme et de les analyser dans la mesure où celà est actuellement possible et utile. Elle se situe dans un territoire compris entre les phénomènes bruts et les phénomènes élémentaires.

Cela rappelé, PASTEUR a su, d'une manière éminente, établir en certains points de la science et de la technique une connexion, une conjonction. Il a réalisé tout autre chose qu'une simple application, une superposition, qui serait tout à fait insuffisante, parce que la technique est tout autre chose qu'une simple application de la science. Et même la science appliquée n'est pas une simple application de la science fondamentale, comme le terme même d'« appliquée » le laisse supposer. Il existe entre elles un double échange. Elles doivent coopérer dès le stade de l'analyse des phénomènes et elles doivent coopérer encore au stade de la synthèse qui conduit aux possibilités pratiques. Science pure, science appliquée et technique se proposent mutuellement des questions, des solutions, des observations. Presque toute l'œuvre de PASTEUR a été réalisée dans cet esprit. On tend parfois à méconnaître l'efficacité de ce processus. C'est pourquoi il est actuel de le rappeler.

Bien sûr, ces vues ne sont pas nouvelles ni récentes. D'ALEMBERT disait déjà, dans le discours préliminaire de l'Encyclopédie, en 1751 : « Les Sciences et les Arts se prêtent mutuellement des secours et il y a par conséquent une chaîne qui les unit ». « Science et technique saisies dans leur englobement réciproque apparaissent beaucoup plus intimement liées que ne le laissent supposer leurs visées divergentes » (R. BOIREL. *Science et technique*. Les problèmes de la philosophie des Sciences, 1955).

Pourtant, aujourd'hui encore, cette conjugaison est souvent, lorsqu'il s'agit notamment de productions agricoles, difficile à réaliser ou à maintenir. La conjugaison apparaît aux uns trop préoccupée de théorie et aux autres, tout au contraire, parce qu'ils redoutent une sorte de compromission avec l'empirisme, trop préoccupée d'application, alors que tout son objet est de maintenir entre ces deux ordres l'équilibre le plus efficace. Cette notion que les problèmes théoriques ne sont pas moins intéressants, ni moins difficiles parce qu'ils sont posés par la pratique, n'est peut-être pas si couramment admise. Parfois même l'intérêt théorique d'un travail scientifique, aussi grand soit-il, semble entaché par la seule existence d'un intérêt pratique de ce travail, comme si à la science pure s'opposait une « science impure » qui serait une science adultérée.

Après avoir exprimé combien les conceptions traditionnelles des rapports entre la science et la technique sont aujourd'hui dépassées et montré que la technique n'est nullement un « sous-produit de la science », F. RUSSO ajoute : « Si grande que de-

meure la place obtenue par la science pure, nous voyons aujourd'hui se développer pour des buts techniques et souvent au sein même de la technique, des recherches d'une haute qualité scientifique. Aussi abandonna-t-on peu à peu l'idée, encore si bien ancrée dans tant d'esprits, que l'utilité altère nécessairement la qualité de l'investigation scientifique ».

Cette idée que l'utilité altère la qualité de l'investigation scientifique était complètement étrangère à PASTEUR. Ayant presque tout au long de sa carrière associé la science et l'application il est étranger à ce sentiment d'une infériorité de la recherche appliquée.

Je dois dire d'ailleurs que l'idée de cet exposé m'a été donnée par une conférence du professeur CHAMPETIER, au récent Colloque Université-Agriculture de Montpellier, où il s'est exprimé en ces termes : « Nous avons porté PASTEUR aux nues, mais nous avons été infidèles à son enseignement... Il n'y a pas de recherche fondamentale sans recherche appliquée qui l'alimente et la transpose, il n'y a pas de recherche appliquée sans une recherche fondamentale vigoureuse... ». PASTEUR n'aurait certainement pas tenu un autre langage ; cette notion pour lui allait de soi.

Il faut donc trouver le moyen d'associer science vraie et technique vraie, en aidant les hommes à effectuer, là où ils se trouvent, les recherches pour lesquelles ils sont préparés, orientées davantage vers l'application ou vers la théorie, ou autant vers l'une et l'autre. L'essentiel est d'être persuadé, d'une part, que la recherche scientifique est le meilleur instrument de progrès technique, d'autre part, que cette combinaison d'empirisme et de science dont est faite la technique n'altère pas la valeur de la part scientifique qu'elle comporte.

En somme, science et technique, bien que de natures différentes, sont en un large territoire naturellement associées. Il existe des forces qui tendent à les séparer ; il existe des raisons précises qui imposent leur conjugaison. On l'a dit : elles sont « autonomes », mais « elles se promeuvent réciproquement ».

N'est-ce pas d'ailleurs ce que font les grandes réalisations modernes, comme l'utilisation de l'énergie nucléaire, l'exploration de l'espace, l'emploi médical des antibiotiques, qui constituent de puissants centres d'intérêt, autour desquels sont animés et coordonnés des programmes de recherche pure extrêmement approfondie, étendue à tous les domaines de la science et à une échelle prodigieuse, recherches théoriques dont la valeur se trouve confirmée par le succès pratique de l'action entreprise. C'est bien un des avantages de cette conjugaison qu'un tel contrôle de la valeur d'une théorie par la réussite pratique.

C'est un fait qu'aujourd'hui la grande recherche scientifique est le plus souvent centrée sur la grande technique. Pourquoi cette même organisation de la recherche scientifique ne serait-elle pas valable dans des domaines plus modestes ? C'est bien en tous cas l'un des enseignements de PASTEUR, de ses études sur le vin et de ses études sur la bière en particulier. Au cours de ces dernières il a donné l'ensemble de sa doctrine sur la fermentation.

***

Un autre trait de la méthode de recherche de PASTEUR est la primauté de l'intuition, qui est la connaissance directe, immédiate de la vérité sans l'aide du raisonnement. Tandis que le raisonnement se développe comme une série de démarches successives, l'intuition nous fait saisir clairement l'objet comme tout d'un coup dans sa réalité, dans son ensemble, étant bien entendu que l'expérimentation doit ensuite

contrôler la justesse de cette intuition. Claude BERNARD dit que « les idées expérimentales résultent d'une sorte de pressentiment que les choses doivent se passer d'une certaine manière », et PASCAL disait qu'on aperçoit la chose d'un seul regard et non par progrès du raisonnement.

En réalité, on sait bien que l'intuition et le raisonnement se combinent dans les opérations de la pensée, mais, on l'a souvent remarqué, c'est surtout l'intuition qui marque l'originalité, l'invention ou le génie du savant.

Tout au long de sa vie scientifique, et dans les détails même de son expérimentation, PASTEUR a donné des exemples remarquables de prescience intuitive. Par exemple il a été conduit, contre les conceptions de l'époque, à cette idée que les agents des fermentations doivent être des microorganismes vivants, parce que des substances dissymétriques se forment au cours de certaines fermentations. Par exemple aussi, abordant l'étude des fermentations, il pense que leur cause doit être analogue à celle des maladies infectieuses.

Il exprime ainsi sa pensée : « Lorsqu'on voit la bière et le vin éprouver de profondes altérations, parce que ces liquides ont donné asile à des organismes microscopiques qui se sont introduits d'une manière invisible et fortuitement dans leur intérieur, où ils ont ensuite pullulé, comment ne pas être obsédé par la pensée que des faits du même ordre peuvent et doivent se présenter quelquefois chez l'homme et chez les animaux » (1866). Egalement dans la préface des études sur la bière, en 1876 : « Ces nouvelles études reposent sur les mêmes principes qui ont servi de guide à mes recherches sur le vin, le vinaigre et la maladie des vers à soie... l'étiologie des maladies contagieuses est peut-être à la veille de recevoir une lumière inattendue ».

Je tiens du professeur PASTEUR VALLERY-RADOT que c'est bien la prescience de cette analogie qui a conduit son grand-père à désigner les altérations de la bière et celles du vin par le terme de maladie, au lieu d'altération. Les titres de ses deux grands ouvrages sont en effet significatifs : « Etudes sur le vin, ses maladies, causes qui les provoquent » et « Etudes sur la bière, ses maladies, causes qui les provoquent ».

On peut faire cette remarque. Si aujourd'hui le problème des causes des maladies contagieuses et infectieuses n'était pas résolu, il est bien certain que les Comités spécialisés le mettraient au Plan. Mais il est non moins certain que les prévisions du Plan ne commenceraient pas par l'étude des maladies du vin, par lesquelles, en fait, est passée l'histoire. Comment aurait-on pu prévoir il y a cent ans que la microbiologie passerait par le vin et ensuite par la bière ? On le voit, le vin a joué un grand rôle dans la pensée scientifique de PASTEUR, dans ses intuitions, comme dans la conjugaison qu'il a réalisée entre science et technique, dans la tournure même de son esprit.

Dans une étude du mécanisme de la découverte, R. DUBOS, ancien élève de l'Institut agronomique et depuis vingt ans chef de service à l'Institut Rockefeller pour la recherche médicale, à New York, a insisté, beaucoup plus qu'on ne l'avait fait auparavant, beaucoup plus qu'il ne semblait d'après les propos même de PASTEUR, sur la primauté de l'intuition dans la genèse de ses découvertes. Si la logique éclate dans la démonstration et l'exploitation qu'il a faites de ses découvertes, il n'en est pas de même dans leur genèse. C'est un peu une logique « après coup », ou bien on peut dire que l'intuition comporte une logique particulière faite de rapprochements qui orientent le raisonnement.

Cela résulte d'une manière précise et quasi générale de la confrontation des dates des publications des découvertes et de leur démonstration expérimentale, toujours postérieure de plusieurs années. « Les plus grandes parmi ses découvertes,

écrit R. DUBOS, ont été le produit d'une intuition visionnaire ; longtemps avant d'avoir reçu leur sanction expérimentale, elles avaient déjà été publiées sous la forme sommaire de notes préliminaires... Dans le cas des recherches sur les maladies des vers à soie, l'ordre suivi dans ses travaux est précisément l'inverse de celui qu'un déroulement logique aurait commandé... ».

Ainsi PASTEUR est parvenu à ses réalisations les plus frappantes par d'audacieuses divinations qui lui permettaient de saisir la solution probable d'un problème avant d'en avoir entrepris systématiquement l'étude expérimentale.

Mais l'exercice de cette faculté d'intuition exige la « paix sereine des laboratoires » selon une expression qui lui était chère. René DUBOS nous le rappelle : « Les collaborateurs et les contemporains de PASTEUR ont insisté sur les aspects rêveur et intuitif de sa nature..., sur la façon totale et exclusive dont il s'absorbait dans un domaine et sur son énorme puissance de concentration », cette puissance de concentration si bien rendue par EDELFELT.

Pour lui, les visites, les réunions étaient importunes lorsqu'elles ne concernaient pas directement ses recherches et certaines questions matérielles, comme les situations et les traitements de ses collaborateurs, ne lui donnaient pas les soucis constants que connaissent les directeurs de laboratoires d'aujourd'hui.

Si l'intuition est le caractère dominant du vrai savant et si elle exige cette concentration de l'esprit, on peut penser que le vrai progrès d'une science dépendra par dessus tout de la faculté d'intuition créatrice de ses hommes de recherche et de la liberté qui leur sera laissée de l'exercer ou de la susciter chez les autres. La recherche scientifique est une ascèse, a-t-on dit ; elle exige que l'on s'y consacre entièrement ; il faut que le chercheur dispose de longs moments où son esprit est assez libre pour se confondre avec l'objet de sa recherche.

Or, les conditions de la vie scientifique moderne ne permettent que rarement le jeu normal de l'intuition ; le temps du vrai travail et de la concentration de l'esprit, le temps de cette « partialité » pour accueillir les faits et les idées pouvant éclairer l'objet de sa recherche, apparaît souvent comme une « peau de chagrin » qui se rétrécit chaque fois que le chercheur s'efforce d'améliorer ou simplement de sauvegarder les conditions de son effort. Trop souvent le chercheur d'aujourd'hui, l'homme capable de pratiquer et de transmettre à d'autres hommes l'art de conjecturer, dès qu'il dépasse les premiers grades, au lieu de voir croître la liberté qui lui est de plus en plus nécessaire, est de plus en plus chargé de besognes et de soucis.

Quoi qu'il en soit, le primat laissé à l'intuition est certainement l'un des éléments essentiels de la méthode de PASTEUR. Et je voudrais introduire une brève remarque qui établit la liaison avec les autres éléments de sa méthode. « Ce que PASCAL, a-t-on dit, appelait l'esprit de finesse, opposé à l'esprit de géométrie, c'était au fond l'intuition opposée à la logique déductive » (A. LAMOUCHE). Or nous avons vu que l'esprit de finesse a des liens avec l'empirisme, qui comporte parfois ce sens de vue d'ensemble, de connaissance intuitive, donnant d'emblée un aspect du réel qui peut être plus clair et plus important que celui donné par l'analyse scientifique.

L'œuvre de PASTEUR et sa méthode même de travail donnent un exemple de la puissance de l'intuition, cette étonnante voie de découverte des lois de la nature, cette étrange faculté de l'esprit humain de coïncider spontanément avec l'ordre du monde sensible. « Il doit y avoir dans le fond des choses, a écrit le philosophe BOUTROUX, une certaine analogie avec l'intelligence de l'homme ». Cette analogie, cette concordance est particulièrement manifeste chez un PASTEUR.

Certes, on le sait, ce don d'intuition était chez lui complété et contrôlé par une

extrême rigueur expérimentale, mais une telle rigueur est générale chez tout chercheur authentique et je ne crois pas que ce soit l'élément le plus original de sa méthode.

***

J'ai essayé dans cette conférence d'exprimer divers aspects de la méthode de travail de PASTEUR, qui m'ont semblé liés les uns aux autres, au niveau d'un sens aigu du réel et de l'exploitation maximale de ce sens du réel. Mais après tout, plutôt qu'une méthode, n'est-ce pas un esprit qui est ainsi décrit, un esprit qui était naturellement, spontanément, capable de concorder avec l'ordre des choses, de se confondre avec lui, par conséquent à la fois de le saisir et de l'utiliser.

De tels esprits portés à un si haut degré de perfection sont rares. Du moins sachons découvrir et cultiver ceux, plus modestes, que nous avons. N'oublions jamais que la recherche scientifique est par dessus tout un problème d'hommes, un problème de conditions humaines. C'est la dernière leçon que j'emprunterai à PASTEUR :

« Elle serait bien belle et bien utile à faire cette part du cœur dans le progrès des sciences. Que les circonstances mettent à la tête d'une science quelconque des hommes qui joignent à une grande autorité la bienveillance dans le caractère et la passion de l'encouragement à la jeunesse, et dans l'espace d'un quart de siècle, tout au plus, vous verrez cette science, fut-elle dans le déclin, prospérer à l'égal d'aucune autre ».

Cette leçon de PASTEUR, elle aussi, est toujours actuelle.

PRÉSIDENTS DE SÉANCE

M. M.A. AMERINE,
Professeur à l'Université de Californie, Davis (U.S.A.).

M. V. BOLCATO,
Professeur à l'Université de Bari,
Directeur de l'Institut Agronomique Méditerranéen (Italie).

M. L. CINCINNATO DA COSTA,
Professeur à l'Institut Supérieur d'Agronomie, Université Technique de Lisbonne (Portugal).

M. E. FEDUCHY,
Professeur à l'Institut National de Recherches Agronomiques, Madrid (Espagne).

M. M. FLANZY,
Directeur de la Station Centrale de Technologie des Produits Végétaux, Narbonne (France).

M. P.G. GAROGLIO,
Professeur à l'Université de Florence,
Directeur de l'Institut des Industries agricoles (Italie).

M. A.F. LINDNER,
Directeur de la Station de Recherches Chimiques, Munich (Allemagne).

STABILISATION BIOLOGIQUE DES VINS

CONTAMINATIONS MICROBIENNES DES VINS MESURES PRÉVENTIVES — HYGIÈNE

R. LAMBION

Directeur de la Station d'Essais du Centre d'Enseignement et de Recherches des Industries alimentaires et chimiques, Bruxelles (Belgique)

Ce rapport tente de tracer un tableau de l'état bactériologique des installations d'élevage, de traitement et de soutirage des vins d'un certain nombre de négoces belges. Dans une deuxième partie, nous étudierons plus particulièrement le problème des levures résistantes à l'acide sorbique. Une troisième partie est consacrée à quelques essais d'emploi de la glucose-oxydase.

Situation actuelle des installations de soutirage au point de vue microbiologique

Le vin est une boisson qui pour de nombreuses raisons, parmi lesquelles il faut souligner le pH, l'alcool et les tanins, présente lorsqu'il a une composition normale, une résistance assez grande à l'attaque de la plupart des microorganismes (1, T. II, p. 442). Cette stabilité est à l'origine d'un certain désintéressement du vinificateur, de l'éleveur et du soutireur pour tous les problèmes bactériologiques et il était classique il y a vingt ans, de conclure, après constatation d'un accident microbien dans un vin, que la seule cause en était une constitution anormale. Faisaient exception à cette conception les vins contenant des sucres fermentescibles, mais l'anhydride sulfureux employé sans discernement permettait d'échapper dans la plupart des cas à la refermentation. Quant aux négociants qui en étaient quand même victimes, ils étaient considérés comme incompétents, alors qu'ils étaient surtout ignorants des mécanismes innombrables de résistance des microorganismes aux antiseptiques.

Les techniques de préparation des vins et le goût des consommateurs évoluent vers des types plus souples, plus rapidement prêts à boire et nous assistons ces dernières années à une diminution de l'acidité totale, à une élévation correspondante du pH, et enfin à un appauvrissement en tanins. La résistance des vins s'en ressent, et bien qu'il n'existe pas de données statistiques à ce sujet, nous constatons que les accidents d'ordre microbiologique sont au moins aussi fréquents qu'avant, alors que les conditions de stockage et d'embouteillage sont meilleures.

Il y a donc intérêt à sensibiliser toute la profession aux problèmes microbiologiques, exactement comme actuellement la plupart des autres industries alimentaires

ont été obligées de s'en préoccuper pour des raisons d'évolution du marché, mais dans le même but : conditionner des produits aussi stériles que possible avec le maximum d'asepsie (2). Le contrôle microbiologique d'un certain nombre d'installations belges permet immédiatement de se rendre compte que ces conditions sont actuellement loin d'être aseptiques.

Passons en revue le matériel susceptible de contaminer le vin.

La vaisselle vinaire. — La cuverie en bois est encore fréquemment employée, surtout pour les transports, et pose de très nombreux problèmes bactériologiques. On avait fondé des espoirs sur la désinfection aux sels d'ammonium quaternaire, mais leur élimination après traitement s'avère parfois très difficile. La plupart des installations prévoit l'échaudage à la vapeur. Cette technique qui est suffisamment efficace dans le cas d'un fût sain, ne l'est plus du tout lorsqu'il s'agit d'un fût contaminé. Voici dans le tableau 1 les résultats d'un contrôle bactériologique de pipes de 600 l désinfectées par 10 minutes d'injection de vapeur (il n'est pratiquement pas possible de laisser agir la vapeur plus longtemps sans abîmer le fût), puis rincées trois fois avec de l'eau de conduite (41 microorganismes par ml) pour un fût sain et quatre fois pour un fût infecté. Les fûts après égouttage sont rincés avec 10 litres d'eau et une numération en boîte de Pétri est réalisée sur milieu pour comptage total (2).

TABLEAU 1

Essais de rinçage des fûts

	Nombre de microorganismes		
	par ml	pour le fût	provenant du fût
Eau de conduite	41	410 000	—
Fût sain	42	420 000	10 000
Fût piqué	1 060	10 610 000	10 190 000

Bien que ce rinçage n'entraîne qu'une fraction minime des microorganismes fixés dans les fibres du bois, une différence de un organisme par ml n'a pas de signification et on peut considérer que le fût sain est quasiment stérile. Par contre le fût piqué provoquera une contamination considérable du vin qui y sera soutiré.

Si le méchage est plus efficace vis-à-vis des *Acetobacter*, il est cependant tout à fait inefficace vis-à-vis des levures. Une barrique ayant contenu un vin blanc doux qui refermentait, après avoir été rincée à grande eau, est mêchée à refus. Après 24 heures d'action, elle est rincée avec deux litres d'eau physiologique stérile et on dénombre dans cette eau plus de 10^5 levures par ml, ce qui confirme les essais de RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD (1, t. I., p. 218).

L'emploi d'une cuverie à parois lisses (verrées, émaillées, vitrifiées, plastifiées, etc.) permet un nettoyage beaucoup plus efficace et le contrôle plus aisé de la propreté apparente. Cette dernière n'est cependant pas suffisante et il est bon de temps en temps de s'assurer de l'efficacité de la technique de désinfection. Ainsi une cuve verrée de 800 hl, nettoyée par brossage à l'aide d'une solution alcaline du commerce, puis rincée avec de l'eau d'alimentation pratiquement stérile (2 à 5 microorganismes

par ml), a été de nouveau aspergée avec 10 l de la même eau. Cette eau est récoltée dans le fond de la cuve et contient 185 microorganismes par ml (levures, bactéries et moisissures) par dénombrement en boîte de Pétri.

Quant aux parties difficilement nettoyables des cuves (ajutages, robinetterie) ou facilement oubliées (au-dessus du portillon de petites cuves dans lesquelles on ne pénètre pas),elles représentent des sources importantes de contamination. Une cuve tampon entre la filtration et le soutirage contient un vin rouge qui donne 15 levures et moisissures par ml. Après avoir laissé couler environ 1 litre de vin par le robinet de niveau, le même vin qu'on y recueille contient 780 levures par ml.

La tuyauterie. — Encore plus que la cuverie, la tuyauterie est une source de contamination. Tout praticien a eu l'occasion de constater des décollements des tuyaux en caoutchouc toilé ou armé, qui représentent des nids à prolifération microbienne importante. La tuyauterie souple doit être particulièrement surveillée et désinfectée par séjour d'une solution antiseptique entre chaque utilisation. Quant à la tuyauterie fixe, on voit de plus en plus de l'acier inoxydable et du pyrex. Si l'inoxydable ne pose plus aucun problème de corrosion, il est cependant très cher et le pyrex doit être préféré non seulement pour son prix, mais surtout parce qu'il permet au responsable de repérer très rapidement un manque de soins. Sur plusieurs installations équipées depuis 2 à 8 ans je n'ai encore constaté qu'un seul bris d'une section. La robinetterie en pyrex est plus délicate. La tuyauterie en matière plastique ne semble pas se généraliser en Belgique.

Le traitement des vins. — Nous n'envisagerons que la filtration qui est presque toujours pratiquée. Des contrôles ont été réalisés sur des installations en fonctionnement et sont comparés à quelques résultats de laboratoire.

La filtration sur kieselgur. — Cette technique est de plus en plus employée, dans les entreprises traitant un volume suffisamment important de vin, car elle permet une filtration rapide et souvent très efficace.

Nous avons eu l'occasion de comparer divers adjuvants de filtration, dont un résumé est consigné dans le tableau 2. Les essais de laboratoire ont été réalisés sur verre fritté suivant la technique de De Clerck (3) et avaient pour but de comparer le kieselgur à un produit de remplacement, la perlite, roche éruptive expansée (4).

Les essais sur filtre 20 × 20 expérimental avec système d'alluvionnage de marque Friedrich*, avait pour but de comparer le kieselgur à un mélange de kieselgur et de cellulose en poudre.

On remarque tout de suite qu'il y a une grande différence entre les pourcentages de rétention dans des essais de laboratoire, sur filtre expérimental ou dans la pratique et il est évident que cette différence est due à l'arrangement plus ou moins bon de la précouche. On ne peut donc pas prévoir avec les techniques actuelles de laboratoire quel sera le pourcentage de rétention dans la pratique. Ces essais ne sont donc valables que pour comparer des adjuvants différents. Cela est d'autant plus vrai que le kieselgur et fort probablement la perlite ont un faible pouvoir adsorbant (5), ce qui explique l'importance primordiale de la technique de réalisation de la précouche. Le contrôle sur place de l'efficacité de la filtration est donc toujours nécessaire.

La différence de pression entre l'entrée et la sortie doit également être surveillée car la rétention des microorganismes est meilleure quand cette différence est faible.

---

* Aimablement fourni par les Etablissements Beeckman à Bruxelles.

La filtration du vin rouge montre une efficacité très comparable à celle signalée par RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD (1, t. I, p. 219).

TABLEAU 2

Filtration sur kieselgur

	Nombre de microorganismes par ml		‰ non retenus
	Avant filtration	Après filtration	
Essais de laboratoire			
Hyflo Supercell.			
Levures	$1{,}2.10^8$	< 1/50	—
Bâtonnets Gram	3.10^4	6/50	0,005
Perlite de même finesse qu'Hyflo Supercell.			
Levures	$1{,}2.10^8$	< 1/50	—
Bâtonnets Gram	3.10^4	10/50	0,007
Essais sur filtre 20 × 20 expérimental			
Super aid	5.10^5	250	0,5
Super aid + Poudre de cellulose	7.10^5	2.200	3
Contrôle de filtration industrielle			
Vin rouge et kieselgur Speed flow			
Numération en aérobiose	19 500	850	50
Numération en anaérobiose (2)	20 000	600	30

On pourrait d'autre part s'attendre à ce que le kieselgur retienne surtout les levures, or, dans cet essai, les numérations en anaérobiose correspondent à des bactéries. La rétention de ces bactéries est meilleure que celle des levures (aérobiose). De plus, alors qu'avant filtration, on comptait des bâtonnets et des coques, après filtration il ne restait que des coques.

Filtration sur plaque. — Voici un résultat typique de ce que l'on rencontre dans le cas de la filtration sur plaque (tableau 3).

Il s'agit donc de vins qui avaient été conservés dans de bonnes conditions et qui étaient déjà particulièrement propres au départ. La filtration, même sur K_5, a amené le vin à un état bactériologique suffisant pour éviter tout accident en bouteille, et cependant le rosé en bouteille contient de nouveau 17 levures par ml. Cette recontamination vient donc des conduites, de la soutireuse ou des bouteilles.

Il y a d'autre part lieu de signaler le danger de laisser un filtre monté et de le remettre en marche le lendemain sans prendre la précaution de travailler un certain temps en circuit fermé. Un filtre contenant des plaques K_7 et maintenu sous pression pendant deux jours a laissé passer en début de filtration un vin contenant 30 levures par ml.

Lavage des bouteilles. — Madame COIGNERAI-DEVILLERS (6) a étudié de façon détaillée le problème du lavage des bouteilles du point de vue bactériologique. Il revêt une importance majeure pour toutes les installations d'embouteillage des eaux, jus de fruits, limonades, sodas et à l'occasion du 3e Symposium International de Microbiologie Alimentaire qui s'est tenu à Evian en 1961, plusieurs études y ont été consacrées (7, 8, 9).

TABLEAU 3

Filtration sur plaques

Microorganismes par ml en aérobiose (levures)

	K_5 (Vin rouge)	K_7 (Vin rosé demi-sec)
Avant filtration	150	2
Après filtration	1	< 1

De son côté, HALTER (10) a examiné les bouteilles neuves et usagées après lavage, destinées au soutirage des jus de fruits. Il arrivait à la conclusion qu'étant donné les conditions de travail dans les petites installations, il est préférable, si l'on emploie des bouteilles neuves, de ne pas les laver lorsqu'il s'agit de laveuses avec postes de brossage. L'emploi de bouteilles non lavées est cependant interdit dans certains pays, et il ne faut d'autre part pas oublier que lors de la recuisson, elles sont soumises à des vapeurs de soufre. Enfin, étant donné leur pouvoir d'échange ionique variable (11) vis-à-vis des liquides acides, il est préférable qu'elles soient toutes passées par les mêmes conditions de pH.

Lorsqu'il s'agit de bouteilles usagées, deux points principaux doivent être examinés pour avoir des chances d'obtenir des bouteilles stériles ou à peu près : *a)* efficacité des bains ou des injections de substances antiseptiques ; *b)* propreté bactériologique des eaux servant au dernier rinçage des bouteilles.

Voici quelques résultats de contrôles faits au hasard dans quelques caves belges (tableau 4).

Caractéristiques des installations.

Cave n° 1 : roue trempeuse + rotative à injection.
Caves n° 2, 3 et 5 : roue trempeuse + brosseuse.
Cave n° 4 : hydrolaveuse (injection + brossage).

L'alcalinité des bains a été déterminée par titrage après précipitation des carbonates au chlorure de baryum (12). Dans ses grandes lignes, ce tableau montre une fois de plus que cette alcalinité n'est pas suffisamment contrôlée et qu'elle est le plus souvent à l'origine d'une insuffisance de propreté bactériologique.

Il faut reconnaître que souvent l'utilisateur s'y retrouve difficilement devant les produits actuels du commerce qui combinent à la fois les différentes activités désirées (mouillante, émulsifiante, dissolvante, séquestrante, désinfectante et rinçante) avec

des efficacités variables en fonction du système de lavage. Le décollement des étiquettes et des dépôts est souvent le critère le plus important aux yeux de l'utilisateur, et les produits dont il faudra mettre le moins pour obtenir l'effet désiré seront retenus, sans se soucier de savoir si à cette concentration, et avec la température atteinte dans le bain, les microorganismes seront détruits. L'emploi d'une concentration plus élevée pour obtenir cette alcalinité s'avère d'ailleurs souvent difficile, car les étiquettes risquent de se désagréger avec tous les ennuis que cela crée. Il y a donc dans ce cas nécessité d'ajouter de la soude. Il existe d'ailleurs des tableaux donnant le temps nécessaire pour détruire les microorganismes en fonction de la température du bain et de sa concentration en soude (13).

TABLEAU 4

Efficacité du lavage des bouteilles

	Nombre de microorganismes par bouteille	Alcalinité du bain en % NaOH au moment du contrôle	Remarques
Cave n° 1	870	0,16	A séjourné 2 j dans la soude
	5	0,16	Lavée depuis 3 j et séchée par égouttage
Cave n° 2	136	0,35	2e jour de bain
	> 2 000	0,02	5e jour de bain
Cave n° 3	120	0,04	
Cave n° 4	± 2 000	0,03	
Cave n° 5	> 50 000	0,06	

Dans certaines installations, l'eau utilisée pour le dernier rinçage provient directement de la conduite d'alimentation. Dans ces conditions, sa stérilité est en général suffisante. Encore faut-il qu'elle ne soit pas au préalable adoucie ou désionisée, car dans ce cas, il est nécessaire de la contrôler régulièrement. Nous avons déjà eu en effet l'occasion de constater que des adoucisseurs étaient des sources importantes d'infection.

Si l'installation a son propre approvisionnement en eau, la bâche à eau doit être surveillée et l'eau désinfectée. Enfin il n'est pas inutile d'examiner le système de dernier rinçage de la laveuse, pour savoir si l'eau qui arrive dans la bouteille est toujours stérile et si l'on ne travaille pas totalement ou partiellement en circuit fermé avec de l'eau d'un bain de rinçage. Le rinçage chaud est aussi une cause de contamination. L'emploi d'eau légèrement stérilisante grâce à un léger excès de chlore ou un peu d'argent a d'ailleurs tendance à se généraliser pour d'autres boissons.

Les bouchons. — Lorsqu'on emploie des bouchons non paraffinés, ils sont plongés dans de l'eau chaude ou une solution d'anhydride sulfureux avant emploi. Le

traitement à l'eau chaude est sans effet sur les microorganismes du bouchon et la goutte éventuelle qui est exprimée et tombe dans le vin au moment du bouchage est presqu'une culture pure. Le traitement à l'anhydride sulfureux est plus valable, bien qu'encore une fois si des levures se trouvent sur le bouchon, elles ne sont pas nécessairement tuées.

Les bouchons paraffinés ne subissent plus aucun traitement et nous avons voulu nous rendre compte de leur état bactériologique. Le tableau 5 rend compte de la population microbienne rencontrée sur des bouchons paraffinés prélevés dans différentes caves, d'origine différente, et simplement agités une heure dans de l'eau physiologique.

TABLEAU 5

Microorganismes des bouchons paraffinés

	Nombre de microorganismes par bouchon	Types de microorganismes
Cave n° 1	13 000	Bactéries, *levures*, moisissures
Cave n° 2	500	Bactéries, moisissures
Cave n° 3	26 400	
Cave n° 4	320	Bactéries, moisissures

Il y a donc une très grande variabilité dans la contamination des bouchons, et la présence en particulier de levures sur les bouchons de la cave n° 1, qui correspond d'ailleurs avec la présence de levures dans l'air du local où ils se trouvent, est particulièrement indésirable. Nous ne pouvons par conséquent qu'applaudir aux tentatives actuelles de livraison de bouchons stériles en emballages hermétiques, à condition que leurs propriétés mécaniques n'en souffrent pas.

APPARITION DE LEVURES RÉSISTANTES DANS DES VINS BLANCS CONTENANT DE L'ACIDE SORBIQUE

Caractéristiques de croissance dans les vins. — Un an environ après le début de l'utilisation de l'acide sorbique ou de son sel dans les vins blancs doux, nous avons vu apparaître quelques cas de dépôts qui, au début, ont été pris pour de la crème de tartre.

En effet, le dépôt granuleux apparaissant dans le fond de la bouteille est accompagné d'un dégagement imperceptible de gaz carbonique. Ces levures se multiplient donc lentement en produisant une quantité très faible de gaz carbonique, mais finissent par constituer dans la bouteille un dépôt compact assez important. A l'examen microscopique, elles se présentent sous forme d'amas, du même genre que ceux qui

ont été décrits par ZAMBONELLI (15) dans le cas de levures devenues résistantes à l'acétate de phénylmercure.

Nous avons ainsi isolé trois espèces différentes, qui ont été caractérisées simultanément au Centraal Bureau voor Schimmelcultures et à la Station d'Essais du C.E.R.I.A. Il s'agit d'un *Sacch. oviformis* et d'un *Sacch. acidifaciens* de deux vins blancs doux et d'un *Sacch. carlsbergensis* d'une limonade. Une dernière levure vient encore d'être isolée d'un vin contenant 145 mg par litre d'acide sorbique et ayant un pH 3,3.

Caractéristiques de résistance de ces levures. — Comme ces levures ont été isolées de vins dans des conditions voisines des limites de résistance décrites par BARRET et BIDAN (16), de même que par RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD (1, t. II, p. 662), nous avons étudié leur comportement en croissance aérobie, en présence d'acide sorbique. Elles présentent des caractéristiques voisines et qui sont directement liées au pH du milieu.

Comme beaucoup d'autres antiseptiques, l'acide sorbique n'a une action antifongique que sous forme de molécules non dissociées, dont la proportion est d'autant plus importante que le pH est bas (17), ainsi que le montre la figure suivante.

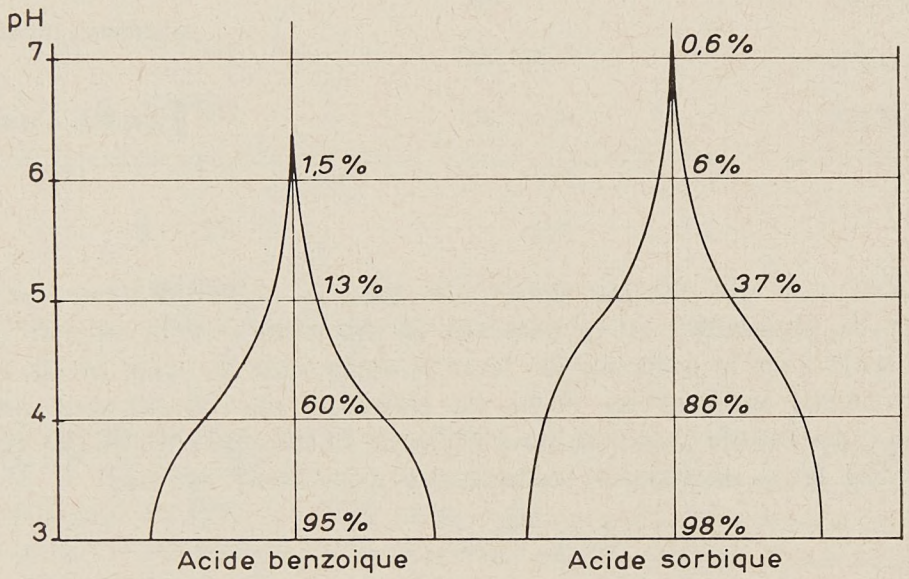


FIG. 1.

L'acide sorbique présente d'ailleurs l'avantage, par exemple par comparaison avec l'acide sulfureux et même l'acide benzoïque, d'avoir un pK tel que le pourcentage élevé de molécules non dissociées est pratiquement le même entre pH 3 et 4. A pH 3, il n'y a que 5,9 % de l'acide sulfureux libre non dissocié et à pH 3,8, il n'y en a plus que 1,0 %.

Des courbes de croissance ont été faites dans des fioles cylindroconiques à appendice permettant la lecture de la densité optique au cours de la croissance (18) en aérobiose (sur agitateur) à différents pH et avec des concentrations variables en acide

sorbique. Le milieu contient 0,1 % d'extrait de levure et 0,2 % de glucose. Du sorbate de potassium est ajouté et le pH ajusté à l'aide d'acide sulfurique.

La figure 2 donne les courbes de croissance aux pH 4 - 3,5 et 3 avec et sans acide sorbique (200 mg par litre). Une densité optique de 0,03 correspond à peu près à 10^6 cellules par millilitre.

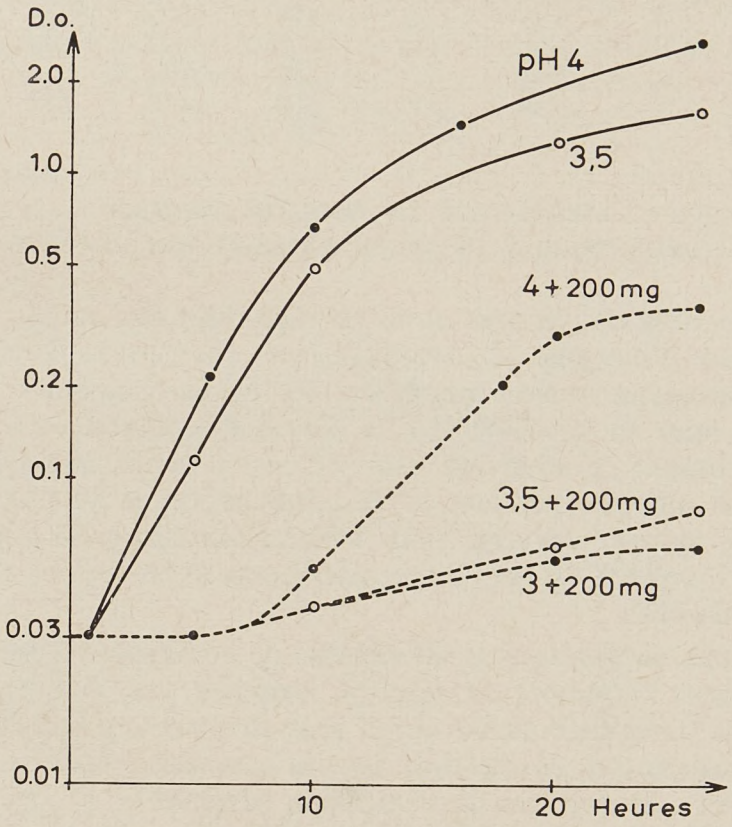


FIG. 2.

Il est évident que la croissance en présence d'acide sorbique est lente et d'autant plus lente que la proportion d'acide sorbique non dissocié est élevée. Les 200 mg par litre correspondent à 172 mg par litre d'acide sorbique non dissocié à pH 4, à 180 mg par litre à pH 3,5 et à 196 mg par litre à pH 3. Le tableau 6 donne les densités optiques de ces cultures pendant plus longtemps, et on s'aperçoit qu'après une très légère croissance, les levures s'arrêtent à un palier très bas.

On pourrait difficilement admettre que la très légère croissance à pH 3 puisse expliquer le dépôt se formant dans les vins. Aussi avons-nous conservé les fioles pendant plusieurs jours et nous avons constaté que si l'on attend assez longtemps, la densité optique monte en tout cas au-delà de 1,0. Des dosages d'acide sorbique avant et après croissance montrent que les levures en laissent la quasi totalité dans le milieu (97 mg par litre, sur 100 mg par litre). Les trois espèces de levures présentent les mêmes caractéristiques de croissance.

TABLEAU 6

Croissance des levures résistantes en présence d'acide sorbique

pH	4			3,5			3		
Ac. sorbique mg par l	0	+ 100	+ 200	0	+ 100	+ 200	0	+ 100	+ 200
0 h	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
10 h	0,68	0,08	0,05	0,50	0,06	0,04	0,33	0,03	0,05
20 h	1,90	0,18	0,30	1,30	0,16	0,06	0,49	0,14	0,06
30 h	3,81	0,44	0,38	1,90	0,42	0,10	0,75	0,30	0,07
40 h	—	1,03	0,38	—	0,70	0,10	1,50	0,45	—
50 h	—	4,01	0,38	4,30	1,00	0,10	2,00	0,45	0,07

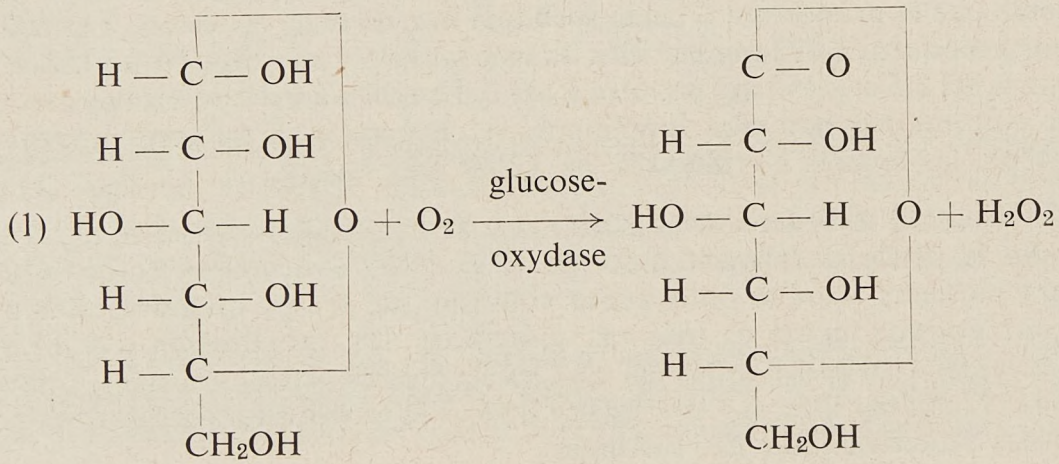
L'EMPLOI DE LA GLUCOSE-OXYDASE POUR INHIBER LE DÉVELOPPEMENT DES LEVURES

La multiplication des levures et la fermentation des sucres sont directement liées à la présence d'oxygène (CANTARELLI (19), MEYERHOF (20), SLONIMSKI (21)). On peut par conséquent espérer empêcher tout développement et tout dégagement de gaz après la mise en bouteille si l'on parvient à éliminer tout l'oxygène de la bouteille. La technique de soutirage sous vide est déjà une première tentative dans ce domaine, mais indépendamment de la complication et du prix d'un tel type de soutirage qui est surtout envisagé pour éviter l'oxydation de vins blancs fragiles, l'élimination de l'oxygène est tout à fait insuffisante et les levures en trouvent encore assez pour se multiplier.

Par contre une enzyme qui serait capable de combiner l'oxygène à un substrat quelconque et dont l'équilibre de réaction laisserait une quantité d'oxygène libre très faible dans la bouteille bouchée aurait plus de chances d'être efficace. C'est le cas de la glucose-oxydase qui, en mélange avec la catalase, constitue la notatine et est extraite des milieux de cultures de *Penicillium notatum* ou *P. amagasakiense*.

Ce mélange est déjà employé dans certaines industries alimentaires soit pour éliminer le glucose (poudre d'œufs, 24) soit pour éliminer l'oxygène (jus de fruits carbonatés ou non, 25, 26). Des essais ont déjà été réalisés en brasserie (27). OUGH de son côté a étudié son comportement dans les vins californiens (28) et nous avons de notre côté entrepris quelques essais en œnologie et cidrerie.

La notatine catalyse les réactions suivantes :



$$(2) \qquad 2\ H_2O_2 \xrightarrow{\text{catalase}} 2\ H_2O + O_2$$

$$(1) + (2) \qquad 2\ C_6H_{12}O_6 + O_2 \longrightarrow 2\ C_6H_{12}O_7$$

Le glucose est donc transformé en acide gluconique, constituant retrouvé assez fréquemment dans le vin.

Si l'on admet qu'au soutirage, le vin contient au maximum 6 ml d'oxygène par litre, la quantité de glucose nécessaire à l'utilisation de cet oxygène est de 0,1 g par litre. La vitesse de la réaction dépendant cependant de la concentration en glucose, pour obtenir un effet suffisamment rapide, il faut au moins 1 g par litre de glucose.

Le mélange glucose-oxydase-catalase existe dans le commerce en poudre ou en solution et nous avons réalisé des essais avec des concentrations en poudre de 5 mg par litre dans le vin* et de 10 mg par litre dans le cidre**.

Conditions opératoires dans le vin. — Il s'agit d'un Liebfraumilch contenant 35 mg par litre d'acide sulfureux libre auquel 5 g par litre de glucose sont ajoutés. L'évolution du rH est observée à l'aide des indicateurs d'oxydo-réduction indiqués par le tableau suivant.

TABLEAU 7

Indicateurs d'oxydoréduction

	E′ à pH 7,0	rH	
		incolore	coloré
2,6-dichlorophénolindophénol	+ 0,227	20	22
Bleu de tolylène	+ 0,115	16	18
Violet de Lauth	+ 0,063	15	17
Bleu de méthylène	+ 0,011	13,5	15,5

Pour chaque indicateur, quatre bouteilles différentes sont préparées suivant les données du tableau 8.

TABLEAU 8

Effet de réduction et d'inhibition en présence de glucose-oxydase (dans le vin)

	Virage de l'indicateur				Croissance des levures
	2,6-DCP	Bleu de tolylène	Violet de Lauth	Bleu de méthylène	
Vin témoin	+	+	—	—	+
Vin + glucose + levures	+	+	—	—	+
Vin + glucose + glucose-oxydase	+	+	+	—	—
Vin + glucose + glucose-oxydase + levures	+	+	+	—	—

* Réalisés avec la collaboration des Laboratoires G.R.K. à Bruxelles.

** Réalisés avec la collaboration de la Cidrerie Stassen à Aubel (Belgique).

La quantité de levure ajoutée est de l'ordre de 5.10^6 par litre, soit environ 5 000 cellules vivantes par millilitre. De plus, le vin en contenait puisque dans le témoin il y a eu croissance. On peut donc observer dans cet essai deux choses : *a)* une réduction plus prononcée en présence de glucose-oxydase (rH ± 15) ; *b)* l'absence du développement des levures en l'absence d'oxygène.

Conditions opératoires dans le cidre. — Il s'agit d'un cidre stocké en tank, donc ne contenant qu'un peu de gaz carbonique dissous, mais pas d'acide sulfureux, et sans glucose. On lui ajoute 1 g par litre de glucose, et trois indicateurs d'oxydo-réduction sont employés, à savoir bleu de tolylène, violet de Lauth et bleu de méthylène, et cela dans les mêmes conditions que pour le vin.

TABLEAU 9

Effet de réduction en présence de glucose-oxydase (dans le cidre)

	Virage de l'indicateur				
	Bleu de tolylène	Violet de Lauth		Bleu de méthylène	
	après 24 h	après 5 j	après 30 j	après 5 j	après 30 j
Cidre témoin + glucose	+	—	±	—	—
Cidre + glucose + glucose-oxydase	+	+	+	—	±

Encore une fois dans ce cas là la réduction est non seulement plus prononcée, mais plus rapide, puisqu'après cinq jours, le rH est de ± 15 et approche après trente jours de 14, alors que le cidre témoin ne semble pas vouloir s'abaisser au-dessous de rH 16. Dans cet essai, des levures avaient également été ajoutées, mais n'ont voulu se multiplier dans aucun échantillon. La proportion de cellules vivantes était probablement trop faible. Il faut d'ailleurs remarquer que la glucose-oxydase n'est efficace qu'en présence d'un nombre raisonnable de levures, car si nous avons déjà une forte population saturée d'oxygène au départ, elle pourra encore se multiplier pendant un certain nombre de générations et donner au vin un aspect trouble. C'est ce qui s'est passé dans un autre essai où le nombre de cellules au départ était de l'ordre de 10^7 par millilitre. Mais on ne peut plus parler dans ce cas d'un vin prêt à la mise en bouteille.

Enfin les premiers essais de dégustation ont montré que les produits traités avec la glucose-oxydase étaient plus frais que les témoins. Jusqu'à présent aucun cas de brunissement anormal du vin n'a été remarqué.

Il ne s'agit que d'essais d'orientation, mais on peut s'attendre grâce à l'emploi de cet enzyme à pouvoir diminuer les teneurs en antiseptiques, et peut-être même à supprimer l'acide ascorbique dont l'emploi ne s'est pas toujours révélé bénéfique.

CONCLUSIONS

Etant donné les conditions actuelles de production et de distribution des vins, il y a lieu de revoir complètement les techniques d'élevage et de soutirage, à la lumière des données microbiologiques modernes.

Connaissant les qualités et les défauts de l'anhydride sulfureux, il n'est plus souhaitable de se baser sur son emploi exclusif pour la désinfection du matériel. Plusieurs produits sont largement employés dans d'autres industries et l'on peut citer le formol et les sels d'ammonium quaternaire. Il ne faut cependant pas se baser sur l'idée qu'ils sont antiseptiques en tous cas et à toute concentration. Les conditions d'emploi variant fort d'une maison à l'autre, il faut contrôler leur efficacité.

De même, pour le nettoyage des bouteilles, le premier contrôle à faire est celui de leur stérilité, et ce n'est que sur la base de ce contrôle que l'on peut ajuster température et concentration des bains. Le contrôle seul de l'alcalinité ne peut se pratiquer que quand la concentration nécessaire a été déterminée, et elle doit se faire après précipitation des carbonates. L'appréciation manuelle de la viscosité du bain n'a aucune valeur.

Il faut vérifier la stérilité des eaux de rinçage en cave et en bouteillerie.

On ne peut plus prendre le risque de constater l'efficacité ou l'inefficacité d'une filtration en observant le comportement du vin en bouteille. Il faut contrôler cette efficacité chaque fois que l'on modifie quoi que ce soit à la technique.

Une filtration bien conduite sur kieselgur permet une bonne élimination des microorganismes, mais elle est insuffisante pour assurer une stabilité biologique. De son côté la filtration sur plaque, même non stérilisante si l'on a peur d'abîmer le vin, doit l'amener à une teneur en microorganismes inférieure à 1 000 par millilitre et nous avons vu que pratiquement on peut arriver en-dessous de 100 levures vivantes par millilitre. Dans des installations travaillant convenablement le contrôle ne peut d'ailleurs plus se faire que sur membrane filtrante, par passage de 50 ml de vin par exemple.

En ce qui concerne les populations bactériennes, en particulier anaérobies, les données sont très limitées et l'absence de milieux sélectifs permettant l'isolement et le dénombrement des bactéries autres que celles de la fermentation malolactique en est certainement la cause.

Elles ne présentent d'ailleurs pas dans la plupart des cas, un très grand danger lorsqu'on prend la précaution d'ajuster au moment du soutirage la teneur en acide sulfureux libre des vins filtrés normalement à des doses de l'ordre de 30 mg par litre.

L'autorisation d'emploi de l'acide sorbique a permis de confirmer une impression qui s'était déjà dégagée de l'observation de nombreuses installations avant son emploi : l'addition d'un antiseptique, quel qu'il soit, ne permet jamais de mettre en bouteilles des vins malpropres au point de vue bactériologique. Il existe encore des caves qui n'ont pas éprouvé le besoin d'employer l'acide sorbique parce que les conditions de mise en bouteille sont excellentes. Par contre celles qui avaient des ennuis de refermentation avec des doses maximales d'acide sulfureux recommencent à en avoir malgré l'emploi de l'acide sorbique. Ces caves n'ont pas compris que l'acide sorbique doit avant tout permettre de moins sulfiter les vins et de les rendre plus agréables, et non pas de les soutirer en bouteilles avec une population levurienne plus élevée qu'autrefois.

L'utilisation de la glucose-oxydase doit être envisagée de la même façon et n'aura de sens qu'avec un vin bien dépouillé de ses levures. Elle présentera l'avantage de cumuler comme l'acide sulfureux un effet fongistatique et une action réductrice. Une expérimentation plus poussée est cependant encore nécessaire dans ce domaine.

Références bibliographiques

(1) J. Ribéreau-Gayon et E. Peynaud. *Traité d'Œnologie*, 1960, T. I ; 1961, T. II. (2) D.A.A. Mossel, J. Bechet et R. Lambion. *La Prévention des Infections et des Toxi-infections alimentaires.* (3) J. de Clerck. *C.R. XXIIe Congrès de Chimie Industrielle*, 1954, **3**, 780. (4) R. Lambion et E. Jacqmain. *B.I.F.*, 1959, n° 10, 20. (5) P. Schmid et W. Kleber. *Brauwissenschaft*, 1960, **13**, 238. (6) L. Coignerai-Devillers. *VIIe Symp. Mat. Etrang. dans les Aliments*, Belgrade, 1961. (7) A. Boudier, F. Cardey et M. Roussiaud. *Ann. Inst. Past. Lille*, 1960, **11**, 55. (8) W. Price-Davies et B.M. Chandler. *Ann. Inst. Past. Lille*, 1960, **11**, 59. (9) A. Boudier et L. Hi. *Ann. Inst. Past. Lille*, 1960, **11**, 133. (10) P. Halter. *Schweiz. Z. für Obst- und Weinbau*, 1959, **68**, 211.

(11) L. Genevois. *VIIe Symposium sur les matières étrangères dans les aliments*, Belgrade, 1961. (12) J. de Clerck. *Cours de brasserie*, 1948, Vol. 2, 295. (13) P.A. Caron. *Techniques modernes d'Embouteillage*, 1960. (14) H. Lüthi et W. Hagnauer. *Schweiz. Zeits. f. Obst- u. Weinbau*, 1955,**64**,498; 1955, **64**, 517. (15) C. Zambonelli. *Ann. Microb. Enzimologia*, 1957, **7**, 183 ; 1958, **8**, 27 ; 1958, **8**, 98. (16) A. Barret et P. Bidan. *Vignes et Vins*, 1960, n° 85, 8. (17) D.W. Emerson. *Canad. Food Ind.*, 1956, **27**, 29. (18) J.M. Wiame et R. Storck. *Bioch. and Bioph. Acta*, 1953, **10**, 268. (19) C. Cantarelli. *Ann. Inst. Pasteur Paris*, 1956, **90**, 645. (20) O. Meyerhof. *Biochem. Zeits.*, 1925, **162**, 44.

(21) P.P. Slonimski. *IIe Congrès Int. Biochimie*, 1952, 94. (22) C.E. Coulthard et coll. *Biochem. J.*, 1945, **39**, 24. (23) K. Kusai et coll. *Bioch. Bioph. Acta*, 1960, **40**, 555. (24) R.R. Baldwin et coll. *Food Technol.*, 1953, **7**, 275. (25) R.R. Barton, S.S. Rennert, L.A. Underkofler. *Food Engng.*, 1955, **27**, 79. (26) R.R. Barton, S.A. Rennert, L.A. Underkofler. *Food. Technol.*, 1957, **11**, 683. (27) D.W. Ohlmeyer. *Food Technol.*, 1957, **11**, 503. (28) C.S. Ough. *Mittl. Rebe u. Wein*, 1960, **10**, 14.

Résumé

Etant donné les risques limités d'accidents microbiologiques dans les vins grâce à leur constitution propre, le négociant belge s'est peu intéressé aux techniques microbiologiques et aux conditions plus ou moins aseptiques de travail. Un rapide examen des conditions actuelles de travail montre que le matériel est rarement exempt de levures, et à plus forte raison de bactéries. L'efficacité des traitements classiques de désinfection est également examinée.

Des conditions de propreté insuffisantes rendent l'emploi de l'acide sorbique inefficace. Quelques caractéristiques de trois espèces différentes de Saccharomyces résistantes à l'acide sorbique sont données.

La pasteurisation ayant peu de partisans, les conditions des désinfections doivent et pourraient encore s'améliorer à la lumière de techniques d'autres industries de boissons moins stables que le vin comme le cidre, la limonade, la bière, le jus de fruit. Quelles sont les méthodes de désinfection le plus en rapport avec l'importance des installations ?

Une fois le vin en bouteille, la seule technique empêchant tout développement de levures serait l'élimination complète de l'oxygène. L'emploi de la glucose-oxydase est discuté. L'anhydride sulfureux reste cependant le seul utilisable contre les maladies anaérobies.

MICROBIAL CONTAMINATIONS OF WINE PREVENTIVE MEASURES — HYGIENE

R. LAMBION

Summary

In view of the limited risks of microbiologic accidents in wine thanks to its natural composition, the Belgian merchant has had little interest in microbiologic technics and the more or less aseptic working conditions. A quick look over the existing working conditions shows that the equipment used is rarely free from yeast and even less from bacteria. The efficiency of the recognized disinfecting treatments is also examined.

Insufficiency of cleanliness in the working conditions makes the use of sorbic acid inefficient. A few characteristics of three different kinds of sorbic acid resistant Saccharomyces are given.

Few being in favour of pasteurization, the disinfecting condition must and should still be improved in the light of the technics belonging to other industries of less stable drinks than wine such as : cider, lemonade, beer, fruit juice. What are the disinfecting methods the most consonant with the extent of equipment ?

Once wine is bottled, the only technic which would prevent all development of yeasts, would be the complete elimination of oxygen. The use of glucose oxidase is discussed. However sulfur dioxide remains the only acid that can be used against anaerobic diseases.

BAKTERIELLE ANSTECKUNG DER WEINE, VORBEUGUNGSMASSNAHMEN, HYGIENE

R. LAMBION

ZUSAMMENFASSUNG

Da die Gefahr von mikrobiologischen Trübungen der Weine auf Grund seiner Beschaffenheit begrenzt ist, haben sich die belgischen Händler wenigen für die mikrobiologische Technik als für die mehr oder minder aseptischen Arbeitsbedingungen interessiert. Eine rasche Prüfung der heutigen Arbeitsbedingungen zeigt, dass das Material selten frei von Hefen und noch seltener frei von Bakterien ist. Die Wirksamkeit der klassischen Behandlungsmethoden zur Desinfektion wurde gleichfalls geprüft.

Ungenügende Sauberkeit machen den Gebrauch von Sorbinsäure unwirksam. Einige charakteristische Eigenschaften von 3 verschiedenen gegenüber Sorbinsäure widerstandsfähigen Saccharomyces-Arten werden besprochen. Da die Pasteurisation wenig Anhänger hat, müssen die Bedingungen der Desinfektion beim Wein noch verbessert werden, wie es bei anderen Industrien von weniger stabilen Getränken, wie Apfelwein, Limonade, Bier und Fruchtsaft, der Fall ist. Welche Methoden sind die zweckmässigsten ?

Bei Flaschenwein wäre die einzige Methodik, welche die Entwicklung der Hefen verhindert der völlige Ausschluss des Sauerstoffes. Die Anwendung von Glukose-Oxydase wird erörtert. Derzeit bleibt als einiges Mittel gegen die aneroben Krankheiten die Anwendung der schwefeligen Säure.

CONTAMINAZIONI MICROBICHE DEI VINI MISURE PREVENTIVE — IGIENE

R. LAMBION

RIASSUNTO

Poichè la costituzione stessa del vino, limita i rischi d'accidenti di natura microbica, il negoziante belga si è poco interessato alle tecniche microbiologiche ed alle condizioni più o meno asettiche di lavoro. Un rapido esame delle condizioni attuali di lavoro mostra che il materiale è raramente esente da lieviti e a più forte ragione da batteri. E pure esaminata l'efficacità dei trattamenti classici di disinfezione.

Una pulizia insufficiente rende l'impiego dell'acido sorbico inefficace. Il relatore descrive alcune caratteristiche di tre specie diverse di Saccharomyces resistenti all'acido sorbico

Poichè la pastorizzazione ha pochi fautori, le condizioni di disinfezione devono e potrebbero ancora essere migliorate, alla luce delle tecniche d'altre industrie di bevande meno stabili del vino, come il sidro, la limonata, la birra, il succo di frutta. Quali sono i metodi di disinfezione più convenienti secondo l'importanza delle installazioni ?

Una volta che il vino è in bottiglia, la sola tecnica capace di impedire ogni sviluppo di lieviti sarebbe l'eliminazione completa dell'ossigeno. L'impiego della glucosidasi è discusso. L'anidride solforosa resta per il momento il solo prodotto utilizzabile contro le malattie anaerobiche.

CONTAMINACIONES MICROBIANAS DE LOS VINOS MEDIDAS PREVENTIVAS — HIGIENE

R. LAMBION

RESUMEN

Dado que los riesgos de accidentes microbiológicos en los vinos son limitados, gracias a su constitución propia, el negociante belga se ha interesado poco en las técnicas microbiológicas y en las condiciones más o menos asépticas de trabajo. Un examen rápido de las condiciones actuales de trabajo muestra que el material está raramente exento de levaduras, y con mayor razón de bacterias. La eficacia de los tratamientos clásicos de desinfección es tabién examinada.

Unas condiciones de limpieza insuficientes hacen ineficaz el uso del ácido sórbico se indican características de tres especes diferentes de Saccharomyces resistentes al ácido sórbico.

Habiendo pocos partidarios de la pasterización, las condiciones de las desinfecciones deben y podrian todavia mejorarse bajo la guía de las técnicas de otras industrias de bebidas menos estables que el vino, como la sidra, la linonada, la cerveza, el jugo de fruta. ¿ Cuáles son los métodos de desinfección que están más en relación con la magnitud de las instalaciones ?

Estando ya el vino en botella, la única técnica que impide todo desarrollo de levaduras es la eliminación completa del oxígeno. El uso de la glucosa oxidasa está en discusión. El anhidrido sulfuroso sigue siendo sin embargo el único utilizable contra las enfermedades anaerobias.

DISCUSSION

Mme JAKUBOWSKA (Lódz, Pologne) : Quelle est l'opinion du Rapporteur sur le niveau admissible de pollution du vin en levures au moment de la mise en bouteilles ?

Réponse : Dans l'état actuel des installations, on est satisfait quand les vins contiennent moins de 1 000 microorganismes par ml, dont moins de 100 levures par ml.

M. FLANZY (Narbonne) : Vous avez débuté en disant : « L'assouplissement des vins imposé par le consommateur aboutit à une diminution de l'acidité et des matières tannoïdes, éléments protecteurs du vin contre l'action des microorganismes ». Voici ma question : est-il possible par une méthode de vinification définie d'obtenir la souplesse désirée, tout en maintenant au vin la résistance aux microorganismes souhaitée ?

Réponse : La diminution de la teneur en acides et en tanin est une constatation et la recherche d'une méthode de vinification permettant de conserver une bonne résistance aux attaques bactériologiques dépasse le cadre du Symposium. Comme dans d'autres industries alimentaires, les exigeances organoleptiques ou économiques provoquent des modifications de composition avec lesquelles la science et la technique doivent compter.

M. PROST (Luxembourg) : Avez-vous fait une statistique comparative des vins embouteillés en Belgique et des vins importés en bouteilles ?

Réponse : Nous n'avons pas fait de comparaison, car le nombre de vins importés en bouteilles en Belgique est limité. Il n'en reste pas moins que les conditions de mise en bouteille sont peut-être encore moins bonnes dans les caves de vinification que dans celles d'élevage et embouteillage.

M. VALAIZE (Béziers) : Quelle était la teneur en acide sulfureux libre des vins traités à l'acide sorbique et dans lesquels on a constaté une multiplication de levures ?

Réponse : Etant donné que les vins sont déjà en bouteilles depuis un certain temps, cette donnée risque de ne pas être très significative. Quoi qu'il en soit, dans un cas, elle était de l'ordre de 30 mg par l.

M. CASAS LUCAS (Jerez de la Frontera, Espagne) : Avez-vous trouvé ou étudié des phénomènes secondaires de réactions de la glucose-oxydase sur les constituants du vin ?

Réponse : Il ne s'agit encore que d'essais d'orientation ; nous n'avons constaté aucun effet secondaire indésirable.

TRAVAUX RÉCENTS SUR LA FERMENTATION MALOLACTIQUE

J.C.M. FORNACHON

Directeur de l'Institut de Recherches œnologiques, Adélaïde (Australie)

Bien que la nature générale de la fermentation malolactique soit connue depuis le travail de MÜLLER-THURGAU et OSTERWALDER (1), c'est seulement depuis peu que l'existence très fréquente de cette fermentation a été reconnue. Dans les cinquante dernières années des travaux sur ce sujet ont été conduits dans la plupart des centres de recherche œnologique à travers le monde. A cause de cet intérêt généralisé et à cause de l'amélioration des techniques de recherche, notre connaissance de la fermentation malolactique s'est beaucoup développée ces dernières années. On réalise maintenant que cette fermentation est très commune et qu'elle se produit, et s'est probablement toujours produite, dans les vins de chaque région productrice. On réalise aussi que la nécessité de cette fermentation dépend de la composition du vin et de la souche de bactérie qui la produit. Il est d'un intérêt considérable de découvrir des méthodes pour contrôler ce phénomène.

LES BACTÉRIES

Plusieurs bactéries différentes se sont montrées capables de décarboxyler l'acide malique dans le vin, mais en Australie il a été trouvé que les membres du genre Leuconostoc semblent être les plus importants microorganismes intéressés, en particulier dans les vins de pH inférieur à 3,4. D'importance voisine sont les lactobacilles hétérofermentatifs semblables à *L. hilgardii* et *L. brevis*. Ces derniers ne tolèrent pas, généralement, les faibles valeurs de pH aussi bien que les leuconostocs, mais ils tolèrent fréquemment des concentrations d'alcool plus élevées. D'autre part, les lactobacilles homofermentatifs, tels que *L. plantarum*, et les coques homofermentatifs semblent être d'une importance tout à fait réduite dans les vins australiens.

Les microorganismes responsables de la fermentation malolactique dans le Bordelais paraissent généralement semblables à ceux trouvés en Australie, sauf que les lactobacilles homofermentatifs sont probablement plus nombreux à Bordeaux qu'en Australie - RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD (2). D'autre part, plusieurs chercheurs ont indiqué que les lactobacilles homofermentatifs et les coques homofermentatifs sont également importants dans les vins de quelques régions - BIDAN (3), LAMBION et MESKHI (4), RADLER (5), INGRAHAM, VAUGHN et COOKE (6).

Toutes ces bactéries sont capables de décarboxyler l'acide malique et d'accomplir ainsi une fermentation malolactique, mais elles diffèrent entre elles à plusieurs points de vue importants et, comme on le verra dans la discussion suivante, ce n'est pas du tout indifféremment que les unes ou les autres se développent dans un vin.

Influence de la fermentation malolactique sur le vin

Effet sur l'acidité. — La fermentation malolactique est généralement représentée par l'équation :

$$\begin{array}{l} CH_2 - COOH \\ | \\ CHOH - COOH \end{array} \longrightarrow \begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CHOH - COOH \end{array} + CO_2$$

bien que l'on sache maintenant que deux réactions successives au moins y participent, et que l'acide pyruvique est formé comme produit intermédiaire.

Comme résultat de cette décarboxylation l'acidité de titration du vin diminue à raison d'un milliéquivalent pour deux milliéquivalents d'acide malique décomposé. Cette chute d'acidité atteint 30 méq dans quelques vins et peut dépasser 30 % de l'acidité initiale de titration, tandis que le pH peut s'élever de 0,2.

Généralement cette chute d'acidité est le résultat le plus important de la fermentation malolactique. Elle peut être souhaitable ou non selon l'acidité initiale du moût et du vin, mais ce n'est pas le seul effet des bactéries sur le vin. Il est bien connu que la décarboxylation de l'acide malique est une réaction endothermique et que les bactéries ont besoin d'une autre source d'énergie. Par conséquent, elles produisent d'autres modifications dont la nature et l'étendue dépendent à la fois de la composition du vin et de la nature des bactéries.

Décomposition des sucres. — Un peu de sucre est probablement toujours décomposé par les bactéries pendant la fermentation malolactique. Dans un vin qui contient seulement des traces de sucre, la quantité décomposée par les bactéries est naturellement très faible, mais si les bactéries se développent fortement avant la fin de la fermentation alcoolique, la quantité de sucre décomposé et les produits formés varient considérablement avec les différentes bactéries et avec les autres conditions.

Toutes les bactéries considérées sont capables de produire de l'acide lactique à partir des sucres et dans quelques cas la quantité formée est suffisante pour augmenter l'acidité de titration, même avec une fermentation malolactique. De plus, les bactéries hétérofermentatives forment des quantités appréciables d'acide acétique à partir des sucres et dans les cas extrêmes aboutissent à une altération caractérisée.

Ribéreau-Gayon et Peynaud (2) ont observé l'importante influence du pH sur le métabolisme des bactéries. En général les faibles valeurs de pH réduisent le métabolisme des sucres plus qu'elles ne diminuent la décarboxylation de l'acide malique, de sorte qu'aux basses valeurs de pH, la totalité de l'acide malique peut être décomposée tandis que très peu de sucre est attaqué. Ils ont trouvé que pour chaque bactérie il y a deux valeurs critiques du pH : une valeur inférieure au-dessus de laquelle l'organisme est capable de se développer et d'attaquer l'acide malique et une valeur un peu plus élevée au-dessus de laquelle les sucres sont rapidement décomposés. De plus,

les valeurs de ces pH critiques, et l'intervalle entre eux diffèrent considérablement pour différentes souches de bactéries. En Australie il a été possible de confirmer ces découvertes générales et on a également noté que les valeurs critiques de pH varient dans des vins différents et dans des milieux de culture différents. Ils sont généralement abaissés dans les milieux enrichis en facteurs de croissance. On a trouvé aussi que les souches de bactéries possédant une grande marge entre les deux valeurs critiques de pH sont beaucoup plus communes dans le genre *Leuconostoc* que dans les autres groupes. En fait, pour la plupart des lactobacilles étudiés cette marge est presque insignifiante : souvent moins de 0,2 unité pH et par conséquent la croissance de ces bactéries dans les vins contenant du sucre peut être dangereuse.

Production de diacétyle et d'acétoïne. — A l'Australian Wine Research Institute, nous nous sommes intéressés à la présence de diacétyle et d'acétoïne dans les vins et nous avons noté une relation entre l'existence de la fermentation malolactique et les quantités de ces substances dans les vins. Généralement, les vins qui ont subi une fermentation malolactique contiennent plus de diacétyle et d'acétoïne que les vins qui n'ont pas subi cette fermentation. Le tableau 1 reproduit quelques analyses typiques.

La production expérimentale de la fermentation malolactique dans des vins par ensemencement avec des cultures pures de *Leuconostoc* est aussi accompagnée de la formation de diacétyle et d'acétoïne. Les résultats de cette expérience avec deux vins blancs sont indiqués dans le tableau 2.

TABLEAU 1

Relations des teneurs en diacétyle et en acétoïne avec la fermentation malolactique

Vins rouges de table — Teneurs en mg par litre			
N° des vins	Année	Diacétyle	Acétoïne
A — *Vins avec fermentation malolactique complète*			
1	1959	1,7	11,1
2	»	1,7	12,4
3	»	1,9	5,0
4	»	1,5	11,3
5	»	1,2	6,9
6	»	1,7	12,3
7	»	6,3	39,5
8	»	4,7	20,7
9	»	5,7	8,6
10	»	5,5	6,0
11	1960	2,4	5,0
12	1961	4,4	10,8
13	1961	7,2	8,5
	Valeurs moyennes :	3,5	12,2
B — *Vins sans fermentation malolactique*			
14	1959	0,6	2,0
15	»	0,6	1,7
16	»	0,5	2,3
17	»	0,4	2,4
18	»	0,9	1,9
19	»	1,6	7,1
	Valeurs moyennes :	0,8	2,9

TABLEAU 2

Production de diacétyle et d'acétoïne pendant la fermentation malolactique provoquée par des cultures de Leuconostoc dans les vins

		30 jours à 22 °C		
N° des vins	Ensemencé	Acide malique g	Diacétyle mg	Acétoïne mg
1	non	2,5	0,2	1,5
1	oui	0	2,3	4,3
2	non	3,0	0,2	1,1
2	oui	0	1,7	2,9

Un certain nombre de bactéries isolées de vins ont été étudiées pour leur capacité à produire du diacétyle dans les milieux contenant du glucose, du fructose, de l'acide malique, de l'acide citrique, de l'acide pyruvique et on a trouvé que ces bactéries se classaient dans les catégories suivantes :

a) Lactobacilles homofermentatifs (par exemple *L. plantarum*) produisant du diacétyle dans les milieux contenant du glucose, du fructose, de l'acide malique, de l'acide citrique ou de l'acide pyruvique.

b) Lactobacilles hétérofermentatifs (par exemple *L. hilgardii* et *L. brevis*) ne produisant pas de quantités significatives de diacétyle dans aucun test, sauf si de grandes quantités (1 g par litre) d'acide pyruvique sont ajoutées au milieu.

c) Les souches de Leuconostoc étudiées varient par leur capacité à produire du diacétyle. Dans les milieux synthétiques aucune ne produit du diacétyle à partir du glucose, du fructose ou de l'acide malique, mais toutes les souches en produisent dans les milieux contenant 1 g d'acide citrique ou 100 mg d'acide pyruvique par litre et quelques souches donnent des quantités notables à partir de 0,5 g d'acide citrique ou de 50 mg d'acide pyruvique par litre. Quelques souches produisent du diacétyle dans le vin (Tableau 2).

Récemment, RADLER (7) a déterminé la somme diacétyle + acétoïne dans 142 vins allemands et a trouvé que cette valeur est nettement plus élevée dans les vins qui ont subi la fermentation malolactique que dans ceux où elle n'a pas eu lieu. Il a aussi trouvé que cette production dans le jus de raisin et dans les milieux synthétiques diffère selon les souches de bactéries.

D'autres recherches sur la production et la signification du diacétyle sont en cours dans nos laboratoires. Il paraît vraisemblable que de petites quantités de diacétyle améliorent l'arôme de quelques vins, mais pour quelques autres, l'arôme du diacétyle a été considéré comme trop prononcé (par exemple pour les numéros 7 et 13 du tableau 1).

Métabolisme azoté. — Plusieurs chercheurs parmi lesquels RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD (8), ARCHINARD et BOUDET (9) et PEYNAUD et DOMERCQ (10) ont attiré l'attention sur les modifications des divers composants azotés du vin au cours de la fermentation malolactique. Ces modification consistent en une augmentation de la concentration de l'azote ammoniacal et des variations quantitatives des aminoacides considérés individuellement. Nous ne connaissons pas encore cependant la portée de ces découvertes par rapport aux propriétés organoleptiques du vin.

Effet sur la stabilité du vin. — L'influence de la fermentation malolactique sur la stabilité du vin est plutôt complexe. La décomposition bactérienne de l'acide malique dans le vin est normalement accompagnée par un trouble et la formation d'un dépôt dus à la multiplication des bactéries. Il y a aussi une augmentation du pH qui peut atteindre 0,2 et cette élévation peut, en retour, produire certains effets secondaires, dont l'importance varie considérablement selon les différents vins.

Si le pH initial du vin est inférieur à 3,6 environ, une augmentation du pH augmente le rapport bitartrate de potassium/acide tartrique, et peut produire une précipitation du bitartrate dans les vins qui sont toujours saturés de ce sel.

On sait que l'acide malique forme des complexes solubles avec le fer et le cuivre dans le vin et la disparition de l'acide malique d'un vin qui contient des quantités significatives de ces métaux peut rendre le vin plus sensible à la casse. D'autre part, cet effet est compensé en partie par l'élévation du pH qui augmente le pouvoir complexant de l'acide tartrique et ainsi l'effet résultant de la fermentation malolactique sur la susceptibilité d'un vin à la casse varie dans les différents vins.

Parfois, à cause de fautes techniques, les vins blancs sont surcollés avec la gélatine. Un caractère de ces vins est qu'ils deviennent troubles si la valeur du pH s'élève et l'accomplissement de la fermentation malolactique élève parfois suffisamment le pH pour produire cette précipitation.

Les différentes modifications mentionnées ci-dessus qui ont pour résultat la formation d'un trouble et de dépôts, sont généralement de peu d'importance lorsqu'elles se produisent tôt, quand le vin est logé en cuves ou en barriques, mais elles sont indésirables ou même désastreuses si elles se produisent après l'embouteillage, et particulièrement si le vin est déjà vendu. Un vin qui doit vraisemblablement subir ces modifications doit être considéré comme instable.

En vérité, la présence largement répandue de bactéries capables de décomposer l'acide malique fait qu'aucun vin contenant une quantité appréciable d'acide malique ne peut être considéré comme biologiquement stable, à moins qu'il contienne en permanence suffisamment d'anhydride sulfureux pour éviter le développement bactérien, ou qu'il ait été pasteurisé en bouteilles ou par filtration stérilisante suivie d'un embouteillage aseptique. Cependant, dès que l'acide malique a été décomposé par la fermentation malolactique, le vin acquiert un degré de stabilité.

Il est utile de noter qu'une neutralisation partielle des vins excessivement acides, par addition de carbonate de calcium ou par d'autres moyens, ne contribue pas à la stabilité des vins, sauf en accélérant la fermentation malolactique.

Contrairement à l'effet stabilisant de la fermentation malolactique déjà discuté, l'élévation du pH qui accompagne ce phénomène peut rendre les vins qui sont déjà pauvres en acidité plus sensibles à d'autres types d'attaque bactérienne conduisant à une altération. BRÉMOND (11) a attiré l'attention sur le fait que certains vins algériens deviennent plus sensibles à l'altération microbienne après la fermentation malolactique. Ainsi la fermentation malolactique influe sur la stabilité du vin de plusieurs façons différentes et quelquefois opposées. L'importance relative de ces effets et l'effet résultant sur la stabilité varient considérablement dans les différents vins.

CONTRÔLE DE LA FERMENTATION MALOLACTIQUE

Les recherches conduites dans beaucoup de régions ont montré que l'existence de la fermentation malolactique dans les vins est plutôt irrégulière et qu'elle se pro-

duit moins rapidement dans les vins les plus acides qui sont justement ceux qui seront vraisemblablement les plus améliorés par elle. Les opinions publiées par diverses autorités indiquent que cette fermentation peut être souhaitable ou non selon le type de vin et sa composition. Cependant, il est généralement admis que les effets de cette fermentation sont beaucoup trop importants pour qu'elle soit laissée au hasard et beaucoup de recherches sont maintenant dirigées dans le but de réaliser un contrôle adéquat.

Le contrôle de la fermentation malolactique implique à la fois la possibilité de l'éviter quand elle est considérée comme indésirable et de la faciliter quand elle est souhaitable. Cependant, la recherche dans ce domaine est pratiquement dirigée entièrement vers le problème de l'activation des bactéries. Les méthodes usuelles pour éviter la croissance bactérienne, y compris l'emploi de l'anhydride sulfureux, soutirage précoce, clarification et filtration, conviennent normalement quand on désire empêcher la fermentation malolactique.

Les recherches sur le problème de l'activation de la fermentation malolactique se classent en deux catégories :

a) Les besoins en facteurs de croissance des bactéries sont étudiés en vue d'ajuster la composition de chaque vin et de contrôler les conditions sous lesquelles il subira rapidement la fermentation malolactique.

b) Des essais ont été faits pour obtenir des cultures de bactéries fortement tolérantes à l'acidité qui puissent être utilisées dans les vins acides, un peu de la même manière que nous employons les cultures de levures pour faire fermenter les moûts.

Bien que le contrôle de la fermentation malolactique soit encore imparfait, une réussite considérable a été obtenue dans ces deux directions de recherches. On sait que les bactéries sont très exigeantes dans leurs besoins en facteurs de croissance et que beaucoup de renseignements sur les besoins de ces microorganismes en facteurs de croissance et amino-acides ont été fournis par les travaux de JERCHEL et coll. (12), de LÜTHI (13), de RADLER (14), de LÜTHI et VETSCH (15) et d'autres. Un soutirage tardif ou un contact prolongé du vin avec les grosses lies s'est montré favorable à la fermentation malolactique, à cause de la libération des amino-acides et des facteurs de croissance due à l'autolyse des cellules de levures, et probablement à cause du retard à l'addition d'anhydride sulfureux au vin. RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD (2) mentionnent que la nature des levures qui conduisent la fermentation primaire a un effet important sur la facilité avec laquelle un vin subit la fermentation malolactique.

On a trouvé que pour toutes les souches étudiées en Australie les besoins nutritifs deviennent de plus en plus difficiles à satisfaire aux faibles valeurs de pH.

Beaucoup de milieux de culture et de vins supportent un développement bactérien à pH 3,8, mais il sera beaucoup plus faible à pH 3,4 et encore plus faible à pH 3,2 ou 3,0. Les bactéries deviennent aussi plus sensibles à l'alcool et à l'anhydride sulfureux aux pH bas.

Un autre facteur d'importance est la quantité relative des acides tartrique et malique présents dans les vins. A pH égal, l'acide tartrique inhibe les bactéries beaucoup plus que ne le fait l'acide malique. Il semble cependant que les facteurs les plus importants qui inhibent la croissance des bactéries décomposant les acides dans les vins d'Australie sont les faibles valeurs de pH et l'anhydride sulfureux.

Le rôle de l'anhydride sulfureux dans cet ensemble est digne d'une mention spéciale, car on pense habituellement que l'acide sulfureux combiné avec les aldéhydes, les sucres, etc. dans le vin (l'acide sulfureux dit « combiné ») n'a pas d'in-

fluence sur les microorganismes. Il semble cependant que cette hypothèse est basée sur les résultats d'expériences conduites avec des levures plutôt qu'avec des bactéries. L'influence de l'acide sulfureux libre et combiné sur les bactéries isolées des vins a été récemment étudiée à l' « Australian Wine Research Institute » et les résultats de ce travail sont près d'être publiés. Les principales conclusions peuvent être brièvement résumées comme suit.

En présence de 70 mg d'acide sulfureux par litre et d'un excès d'acétaldéhyde, la bactérie homofermentative *Lactobacillus plantarum* donne un développement normal mais les microorganismes hétérofermentatifs *Lactobacillus hilgardii* et *Leuconostoc mesenteroides* n'en donnent pas. Les microorganismes hétérofermentatifs commencent à se développer normalement, mais le développement cesse après quelques jours ; on a alors trouvé que ces cultures ont perdu plus de 60 % du taux d'aldéhyde et contiennent entre 10 et 20 mg par litre d'acide sulfureux libre. En consommant l'aldéhyde, ces bactéries ont libéré suffisamment d'acide sulfureux pour empêcher un développement ultérieur.

Avec des doses plus élevées d'acide sulfureux (150-200 mg par litre) la croissance des trois types de bactéries est impossible, en dépit de la présence d'un excès d'aldéhyde et de l'absence d'acide sulfureux libre. Ces résultats n'indiquent pas que ces doses particulières d'acide sulfureux inhibent toutes les souches de bactéries dans toutes les conditions. La tolérance à l'anhydride sulfureux varie avec la souche de bactérie et avec le milieu de culture. On doit noter cependant que, contrairement aux levures qui produisent de l'aldéhyde et combinent l'acide sulfureux, quelques types de bactéries sont capables de consommer l'aldéhyde sous forme de combinaison sulfitique et de libérer ainsi suffisamment d'acide sulfureux pour inhiber leur croissance.

Les essais de réalisation de la fermentation malolactique en ensemençant les vins avec des cultures pures de bactéries ont généralement donné des résultats décevants, bien que quelques réussites aient été obtenues en employant des lies de vins qui avaient déjà subi la fermentation malolactique pour induire ces phénomènes dans d'autres vins. En 1959, PEYNAUD et DOMERCQ (16) signalaient avoir réussi en inoculant non le vin, mais le moût en fermentation avec des bactéries sélectionnées. Ce résultat représente le progrès le plus important dans le contrôle de la fermentation malolactique et la même méthode a été appliquée avec succès en Californie par WEBB et INGRAHAM (17) et aussi en Australie. Cette méthode semble devoir sa réussite au fait que les bactéries sont introduites dans un milieu qui contient davantage des divers facteurs nutritionnels essentiels et moins d'alcool que le vin et dans lequel le métabolisme des levures assure que tout l'acide sulfureux reste combiné à l'acétaldéhyde. Dans les expériences faites en Australie, on a trouvé que si l'on n'emploie pas l'acide sulfureux, la fermentation malolactique se fait avec la même régularité que les bactéries soient ajoutées avant, pendant ou après la fermentation alcoolique, mais si le vin est filtré pour éliminer les cellules de levures immédiatement après la fermentation alcoolique et avant l'addition des bactéries, la fermentation malolactique est retardée.

Si l'on a ajouté 100 mg d'anhydride sulfureux par litre de moût, la fermentation malolactique se produit beaucoup plus régulièrement quand les bactéries sont introduites *pendant* la fermentation alcoolique que lorsqu'elles sont ajoutées avant ou après.

Le succès de la réalisation de la fermentation malolactique par ensemencement dépend de l'utilisation d'une souche appropriée de bactérie et de l'addition de la quantité correcte de levain au moment voulu.

La bactérie doit être choisie pour sa tolérance à l'acidité, à l'alcool et à l'anhydride sulfureux. Il y a des différences importantes entre les souches d'une même espèce par rapport à chacun de ces caractères. Nous avons réussi à augmenter la tolérance de bactéries à l'anhydride sulfureux par culture répétée en présence d'anhydride sulfureux au cours d'une période d'environ un an. L'augmentation de la tolérance n'a pas été très grande, mais elle est tout à fait significative (de 40 à 70 mg d'acide sulfureux total par litre dans un milieu synthétique). Comme cela a déjà été dit, les bactéries doivent aussi être sélectionnées pour leur capacité à attaquer l'acide malique plutôt que les sucres aux pH bas. Dans notre expérience, les souches les plus utiles se trouvent être du genre *Leuconostoc*. Les détails de la préparation des cultures de bactéries dans du jus de raisin dilué, enrichi d'extrait de levure sont décrits par PEYNAUD et DOMERCQ (16).

Quand on emploie les cultures bactériennes, il est important de choisir la quantité de culture, et le moment de l'inoculation, afin que les bactéries puissent se multiplier quand les levures sont en pleine activité et conservent l'acide sulfureux sous la forme combinée, mais aussi afin que les bactéries n'atteignent de grands nombres que lorsque les levures ont fait fermenter presque tout le sucre. Le moment approprié de l'addition et le nombre de bactéries à ajouter varient sans doute considérablement avec les différents vins et avec les différentes souches de bactéries. PEYNAUD et DOMERCQ (16) recommandent l'addition d'environ 0,01 % de culture bactérienne active ; SUDRAUD et CASSIGNARD (18) mentionnent des quantités plus grandes — environ 0,1 % — et cette dose a été employée avec succès en Australie, mais il faut encore faire beaucoup de recherches avant que des recommandations précises pour l'emploi des cultures bactériennes en vinification puissent être faites. FELL (19) rapporte des résultats encourageants obtenus avec un levain mixte de levures et de bactéries dans le moût, mais il paraît vraisemblable que le contrôle des populations bactériennes soit plus difficile avec cette méthode.

Il y a d'autres facteurs importants dans la production de la fermentation malolactique : il faut employer la quantité minimale d'acide sulfureux avant la fermentation, de préférence pas plus de 50 mg par litre ; maintenir la température entre 20 et 25 °C et retarder le soutirage et l'addition ultérieure d'acide sulfureux jusqu'à ce que la fermentation malolactique soit terminée.

Dans les vins très acides, l'emploi de levures spéciales qui consomment l'acide malique comme l'ont suggéré RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD (20) peut être utile, mais nécessite encore des recherches.

Un facteur très important facilitant le contrôle de la fermentation malolactique en vinification a été le développement des méthodes simples de chromatographie pour déterminer l'acide malique dans le vin. Un certain nombre de ces méthodes sont maintenant disponibles et quelques unes sont suffisamment simples pour être employées dans un laboratoire de vinification ordinaire, et sont en même temps suffisamment quantitatives pour indiquer avec certitude si la fermentation malolactique d'un vin a eu lieu. Ces méthodes sont maintenant employées comme test de routine pour examiner les vins rouges pendant leur conservation dans beaucoup de chais d'Australie.

Conclusions

Du point de vue du vinificateur, le plus grand problème posé par la fermentation malolactique est l'irrégularité de son existence dans les vins les plus acides. Beaucoup d'études ont été conduites dans le but de contrôler cette fermentation. Les progrès récents les plus importants dans ce domaine semblent être :

a) Identification des diverses bactéries impliquées, et détermination des différences entre les souches en ce qui concerne leurs besoins en facteurs de croissance et les produits de leur métabolisme. Ces études ont permis de reconnaître les types de bactéries les plus souhaitables pour effectuer la fermentation malolactique dans les vins.

b) Une compréhension approfondie des besoins en facteurs de croissance des diverses bactéries, des conditions qui favorisent leur développement dans le vin et de l'influence de divers facteurs sur leur métabolisme.

c) Méthodes éprouvées de détermination de l'acide malique et ainsi reconnaissance de la fermentation malolactique dans les vins.

d) Addition de cultures de bactéries sélectionnées pendant la fermentation primaire comme moyen de produire la fermentation malolactique.

Références bibliographiques

(1) H. Müller-Thurgau et A. Osterwalder. *Zentbl. Bakt.* 11, 1913, **36**. (2) J. Ribéreau-Gayon et E. Peynaud. *Traité d'Œnologie*, tome II, 1961. (3) P. Bidan. *Ann. Technol. Agric.*, 1956, **4**, 597. (4) R. Lambion et A. Meskhi. *Rev. Ferm. Ind. alim.*, 1957, **12**, 131. (5) F. Radler. *Archiv. Microbiol.*, 1958, **30**, 64. (6) J.L. Ingraham, R.H. Vaughn et G.M. Cooke. *Amer. J. Enol. Vitic.*, 1960, **11**, 1. (7) F. Radler. *Vitis*, 1963, **3**, 136. (8) J. Ribéreau-Gayon et E. Peynaud. *Ann. Ferment.*, 1938, **4**, 559. (9) R. Archinard et J. Boudet. *Ann. Falsif. Fraudes*, 1955, **48**, 17. (10) E. Peynaud et S. Domercq. *Ann. Technol. agric.*, 1961, **10**, 43.

(11) E. Bremond. *Vignes et Vins*, 1962, n° 105, 3. (12) D. Jerchel, P. Flesch et E. Bauer. *Ann. Chemie*, 1956, **601**, 40. (13) H. Lüthi. *Rev. Ferm. Ind. alim.*, 1957,**12**,15.(14) F. Radler. *Archiv. Microbiol.*, 1958, **32**, 1. (15) H. Lüthi et E. Vetsch. *J. Appl. Bact.*, 1959, **22**, 384. *Trav. Chim. alim. Hyg.*, 1959, 50, 264. (16) E. Peynaud et S. Domercq. *C.R. Acad. Agric.*, 1959, **45**, 355. (17) R.B. Webb et J.L. Ingraham, *Amer. J. Enol. Vitic.*, 1960, **11**, 59. (18) P. Sudraud et R. Cassignard. *Vignes et Vins*, 1959, n° 80, 10. (19) G. Fell. *Ann. Agric. Suisse*, 1961, **10**, 249. (20) J. Ribéreau-Gayon et E. Peynaud. *C.R. Acad. Agric.*, 1962, **48**, 558.

Résumé

Les résultats des travaux de plusieurs centres de recherches ont montré que les bactéries responsables de la fermentation malolactique dans le vin comprennent des membres de chacun des principaux groupes de bactéries lactiques : bacilles et coques, hétérofermentatifs et homofermentatifs.

Bien que tous les organismes produisant cette fermentation décarboxylent l'acide malique, ils diffèrent entre eux par leurs effets sur le vin. Ils diffèrent par leur réponse aux différentes valeurs du pH, par les produits secondaires qu'ils forment dans des conditions variées, par leur tolérance à l'alcool et à l'anhydride sulfureux.

En Australie, on a trouvé que les microorganismes qui conviennent le mieux pour accomplir la fermentation malolactique appartiennent au genre *Leuconostoc*.

La fermentation malolactique influe sur la stabilité du vin de manières différentes et parfois opposées. L'importance relative de ces effets, et l'effet résultant sur la stabilité, varient considérablement dans des vins différents.

Bien que le contrôle de la fermentation malolactique soit encore imparfait, un progrès considérable a été réalisé dans ce sens ces dernières années. D'une part, cette fermentation peut être évitée par des techniques appropriées de vinification, et d'autre part, elle peut être favorisée par addition, au moût en fermentation, de cultures pures de bactéries sélectionnées.

On connaît bien maintenant les critères à utiliser pour sélectionner les souches de bactéries appropriées, et les conditions dans lesquelles les bactéries doivent être employées, mais d'autres recherches sont encore nécessaires pour que des recommandations précises puissent être formulées dans l'emploi des cultures bactériennes en vinification.

RECENT WORKS ON THE MALO-LACTIC FERMENTATION

J.C.M. FORNACHON

Summary

The results of work in many centres have shown that the bacteria responsible for malo-lactic fermentation in wine include members of each of the principle groups of the lactic acid bacteria : heterofermentative and homofermentative rods and cocci.

Although all of the organismes causing this fermentation decarboxylate malic acid, they differ from one another in their effects on wine. They differ in their response to different pH values and the by-products which they form under various conditions and they differ in their tolerance to alcohol and SO_2. In Australia it has been found that the most suitable organisms for bringing about the malo-lactic fermentation belong to the genus *Leuconostoc*.

The malo-lactic fermentation influences the stability of wine in different and sometimes opposite ways. The relative importance of these effects and the net effect on stability vary considerably in different wines.

Although control over malo-lactic fermentation is still imperfect considerable progress in this direction has been made in recent years. On the one hand this fermentation can be prevented by appropriate winery techniques and on the other hand it can often be promoted by adding pure cultures of selected bacteria to the fermenting must.

Much is now known of the criteria to be used in selecting suitable strains of bacteria and of the conditions under which the bacteria should be used, but further investigations are still needed before precise recommendations can be made for the use of bacterial cultures in the winery.

NEUZEITLICHE ARBEITEN ÜBER DEN SÄUREABBAU

J.C.M. FORNACHON

Zusammenfassung

Die Resultate verschiedener Untersuchungesanstalten haben gezeigt, dass die verantwortlichen Bakterien des biologischen Säureabbaus in Wein aus Gliedern der hauptsächlichsten Gruppen der Milchsäurebakterien bestehen : heterofermentative und homofermentative Bazillen (Stäbchenpilze, Spaltpilze) und Kokken.

Obgleich alle diese Gärung hervorrufenden Organismen die Apfelsäure decarboxylieren, unterscheiden sie sich voneinander durch ihre Wirkung auf den Wein.

Sie unterscheiden sich durch ihre Reaktion bei verschiedenen pH-Werten, durch die Neben-

produkte, welche sie unter verschiedenen Bedingungen bilden, durch ihre Verträglichkeit gegenüber dem Alkohol und der Schwefeligen Säure (SO_2).

In Australien hat man herausgefunden, dass die Mikro-Organismen, welche am besten geeignet sind, den Säureabbau herbeizuführen, der Gattung *Leuconostoc* angehören.

Der Säureabbau beeinflusst die Stabilität des Weines auf verschiedenartige, bisweilen entgegengesetzte Weise. Die relative Bedeutung dieser Einflüsse und die sich daraus ergebende Wirkung auf die Stabilität variieren baträchtlich bei den verschiedenen Weinen.

Obgleich die Kontrolle des Säureabbaus noch unvollkommen ist, wurde in den letzten Jahren in dieser Hinsicht ein bemerkenswerter Fortschritt erzielt. Einerseits kann diese Gärung durch geeignete Massnahmen bei der Weinbereitung verhindert, andererseits durch Zugabe von Reinkulturen aus selektionierten Bakterien in dem gärenden Most begünstigt werden.

Man kennt jetzt die Unterscheidungs-Merkmale, um Stämme der geeigneten Bakterien auszuwählen, und die Bedingungen, unter denen die Bakterien angewandt werden dürfen. Weitere Forschungen sind noch notwendig, damit genaue Verhaltungsmassregeln in der Anwendung der Bakterien-Kultur in der Weinbereitung gefunden werden können.

RECENTI RICERCHE SULLA FERMENTAZIONE MALOLATTICA

J.C.M. FORNACHON

RIASSUNTO

I risultati degli studi di molti centri di recerche hanno mostrato che i batteri responsabili, della fermentazione malo-lattica nel vino fanno parte di tutti i principali gruppi di batteri lattici : bacilli e cocchi, eterofermentativi e omofermentativi.

Tutti questi organismi sono ugualmente capaci di realizzare la retrogradazione dell'acido malico, ma si differenziano tra loro per specifici effectti sul vino. Essi differiscono per la maniera di reagiro ai differenti valori del pH, per i prodotti secondari ai quali danno origine in differenti condizioni, per la tolleranza all'alcole ed all' anidride solforosa.

In Australia, si è constato che i microrganismi, che meglio realizzano la fermentazione malolattica appartengono al genere *Leuconostoc.*

La fermentazione malolattica agisce sulla stabilità del vino in maniera differente e talvolta opposta. L'importanza relativa di questi effetti, e l'effetto risultante sulla stabilità, variano considerevolmente in vini differenti.

Benchè il controllo della fermentazione malolattica sia ancora imperfetto, un progresso considerevole è stato realizzato, in questo senso, in questi ultimi anni. Da un lato, questa fermentazione può essere evitata con tecniche appropriate di vinificazione, e dall'altro lato, può essere favorita per aggiunta, al mosto in fermentazione di culture pure di batteri selezionati.

Oggi si conoscono molto bene i criteri da seguire nella selezione dei ceppi dei batteri più adatti, e le condizioni nelle quali i batteri devono essere impiègati, ma altre ricerche sono ancora necessarie per potere formulare idee precise sull'impiègo delle culture batteriche in vinificazione.

TRABAJOS RECIENTES SOBRE LA FERMENTACIÓN MALOLÁCTICA

J.C.M. FORNACHON

RESUMEN

Los resultados de los trabajos de varios centros de investigación han muostrado que las bacterias responsables de la fermentación maloláctica en el vino, comprend miembros de cada uno de los principales grupos de bacterias lacticas : bacilos y cocos, heterofermentativos y homofermentativos.

Aunque todos los organismos que producen esta fermentación descarboxilan el ácido malico, difieren entre ellos por sus efectos sobre el vino. Difieren por su reacción a los diferentes valores de pH, por los productos secundarios que forman en diferentes condiciones, por su tolerancia al alcohol al anhidrido sulfuroso.

En Australia se ha encontrado que los organismos mós adecuados para llevar a cabo la fermentación maloláctica pertenecen al género *Leuconostoc.*

La fermentación maloláctica influye sobre la estabilidad del vino de diferentes maneras y algunas veces opuestas. La importancia relativa de estos efectos, y el efecto resultante sobre la estabilidad, varian considerablemente en distintos vinos.

Aunque el control de la fermentación maloláctica sea todavia imperfecto, se ha realizado un progreso considerable en este sentido en los últimos años. Por una parte esta fermentación puede ser evitada por tecnica apropriadas de vinificación, y por otra, puede ser favorecida con la adición al mosto en fermentación de cultivos puros de bacterias seleccionadas.

Actualmente se conocen bien los criterios a utilizar para seleccionar los cultivos de bacterias apropriados y las condiciones en las cuales deben ser empleadas las bacterias, pero son todavias necesarias otras investigaciones para poder formular recomendaciones precisas en el uso de los cultivos bacterianos en vinificacion.

DISCUSSION

M. T. MANONCOURT (Saint-Emilion) : Y a-t-il un danger à ce que la fermentation malolactique démarre au moment où il y a encore des sucres résiduels en quantité importante ? Peut-on retarder le départ de la fermentation malolactique et le reporter après l'épuisement des sucres ?

Réponse : Le danger qui résulte de la présence de sucre résiduel dans les vins au moment de la fermentation malolactique dépend : *a)* de la quantité de sucre ; *b)* du pH ; *c)* du type des micro-organismes. Le danger est moindre aux pH bas ; il est plus faible avec les *Leuconostoc* qu'avec les *Lactobacillus* hétérofermentatifs, mais il peut varier avec la souche.

M. LAMBION (Bruxelles) confirme les indications de M. FORNACHON ; par exemple, on peut retarder la fermentation malolactique dans les cidres par l'emploi de techniques de clarification du moût avant toute fermentation alcoolique, telles que filtration ou centrifugation des moûts.

M. GAROGLIO (Florence, Italie) demande si le rapporteur a étudié l'influence de quantités croissantes de polyphénols sur la fermentation malolactique ; cette influence serait très intéressante à connaître dans le cas des vins rouges fortement colorés.

Réponse : L'influence des polyphénols sur la fermentation malolactique n'a pas été spécialement étudiée en Australie.

M. CANTARELLI (Pérouse, Italie) : Parmi les bactéries capables de consommer l'acide malique, en trouve-t-on qui forment des mucilages par utilisation des sucres ?

Réponse : Nous n'avons noté la production de mucilages au cours de la fermentation malolactique seulement qu'à de très rares occasions.

M. LINDNER (Munich, Allemagne) : Vous avez constaté parfois une formation remarquable de diacétyle et d'acétoïne, substances voisines du 2,3- butylèneglycol produit de la fermentation alcoolique. Avez-vous observé quelque relation entre la teneur en 2,3- butylène glycol du vin et la quantité de diacétyle et d'acétoïne ?

Réponse : Un travail sur les facteurs relatifs à la production de diacétyle est actuellement en cours. La question mentionnée par M. LINDNER n'a pas été étudiée.

M. BERG (Davis, U.S.A.) : Avez-vous utilisé des cultures pures de bactéries dans la pratique de la vinification en Australie ?

Réponse : L'utilisation de cultures pures de bactéries sélectionnées pour provoquer la fermentation malolactique par ensemencement du moût en fermentation a été tentée en Australie, mais seulement sur le plan expérimental. Les cultures n'ont été utilisées que de façon limitée dans les caves de vinification.

M. MILISAVLJEVIC (Novi Sad, Yougoslavie) : Le Rapporteur a-t-il tenu compte du système Krassilnikov pour la classification des bactéries ? Accepte-t-il ce système de classification ?

Réponse : Le système utilisé pour la classification des bactéries lactiques est celui indiqué par le Bergey's Manual. Ce groupe est divisé en bacilles et coques homofermentatifs et hétérofermentatifs et chacun de ces sous-groupes est divisé en espèces d'après la fermentation des sucres et des tests similaires. Je ne suis pas familiarisé avec le système de KRASSILNIKOV.

M. LÉGLISE (Beaune) : Avez-vous effectué des mesures de potentiel d'oxydo-réduction pendant les fermentations malolactiques ? Entre quelles limites est-elle possible ?

Réponse : Des mesures électrométriques de potentiel rédox ont été effectuées à l'aide d'électrodes de platine, avec électrode de référence au calomel. La relation entre le potentiel rédox et la fermentation malolactique n'a pas été étudiée de manière complète, mais les résultats obtenus indiquent que le potentiel rédox n'est pas le facteur principal déterminant l'existence de cette fermentation.

INTERVENTION DE M. SILVA BABO
Commission de Viticulture de la Région des Vins Verts, Porto (Portugal)

Essais d'application des bactéries malolactiques aux vins verts

Les « vins verts », après la fermentation alcoolique, sont des vins acides et particulièrement riches en acide malique (90 à 100 méq par litre). Au printemps, la fermentation malolactique les transforme en vins souples, frais, riches en acide lactique (30 à 40 méq par litre) et pétillants, ce qui leur donne leur originalité. C'est la raison fondamentale qui justifie l'intérêt que nous avons, dans la Région Délimitée des « Vins Verts », à réussir la fermentation malolactique par l'application des bactéries sélectionnées.

Préparation des cultures des bactéries pour l'ensemencement. — Dans les essais d'application des bactéries malolactiques, nous avons la préoccupation de toujours assurer les mêmes conditions de développement aux bactéries dans leur milieu de culture. Nous cherchons aussi à utiliser des cultures du même âge, ayant la même densité de population et dans les mêmes proportions. Cependant, nous faisons des essais préalables pour fixer l'âge, la densité de culture et la proportion de l'ensemencement les meilleurs.

Sélection de bactéries malolactiques plus rustiques. — Normalement nous faisons l'application du « *Bacterium gracile* », mais nous recherchons d'autres espèces de bactéries malolactiques plus rustiques. Dans ce but, nous isolons des bactéries, nous les essayons au point de vue de la fermentation des acides et ensuite faisons des essais comparatifs d'application aux vins en laboratoire.

Recherche d'une association levures et bactéries. — Nous avons actuellement un autre essai en cours, dont l'objectif est de choisir les levures qui rendent le vin plus riche en substances essentielles pour le développement des bactéries. Nous pourrons ainsi disposer d'un vin convenable comme milieu de culture pour les bactéries. A cet égard, nous essayons à présent deux cents levures, que nous avons isolées des vins de la dernière récolte.

Influence de quelques facteurs sur la fermentation malolactique. — Les conclusions suivantes sur ce sujet découlent de la réalisation de soixante-quinze essais de laboratoire. Nous avons considéré plusieurs facteurs, isolés ou ensemble, mais toujours avec la préoccupation de ne pas oublier la possibilité d'application technologique. En résumé, nous avons remarqué que :

1° La fermentation malolactique s'est effectuée dans quelques essais, même avec l'application de 100 mg par litre d'anhydride sulfureux avant la fermentation alcoolique.

2° Pour permettre l'addition de l'anhydride sulfureux au moût, nous avons préféré faire l'ensemencement des bactéries au moment du décuvage.

3° Ce décuvage a été effectué à la densité de 1 020, quand il restait encore du sucre à fermenter.

4° Tous les essais ont été maintenus à une température de 17 à 20 °C.

5° Nous avons fait, au moment du décuvage, la correction du pH jusqu'à 3,2, mais nous avons vérifié que, comme facteur unique, le pH n'a pas eu d'intérêt.

6° Nous avons procédé aussi à l'addition d'extrait de levure et nous pouvons conclure que cet apport est utile, spécialement quand nous avons fait en même temps la correction du pH.

7° Le complexe vitaminique B est un facteur favorable à la fermentation malolactique.

8° L'addition d'ammonium, comme facteur unique, a un intérêt réduit, mais a de l'influence quand elle agit avec le pH.

9° Le soulèvement des lies a intensifié le développement de la fermentation malolactique.

10° Les soutirages ont rendu cette fermentation plus difficile.

A la suite de ces essais, nous avons cherché à faire une application en cave. Nous avons ensemencé avec dix litres d'une culture de « *Bacterium gracile* », le vin rouge d'une cuve de 50 hl au moment du décuvage. Nous avons additionné du pantothénate de calcium, acide nicotinique, riboflavine, aneurine et ammonium. Le premier soulèvement des lies a été effectué en novembre et le deuxième en décembre. En novembre, les vins avaient 6,9 g d'acidité fixe par litre ; en juin, le vin témoin avait 6,0 g par litre et le vin ensemencé n'en avait que 4,0 g.

A l'heure actuelle nous avons en observation d'autres essais dans des caves coopératives. Nous supposons que pour provoquer la fermentation malolactique, il serait convenable de faire au moment du décuvage :

— l'application des bactéries malolactiques ;

— la correction du pH, quand il est inférieur à 3,2 ;

— l'addition du complexe vitaminique B ;

— l'addition de l'extrait de levure ;

et encore

— l'addition d'ammonium et le soulèvement des lies.

Cependant il faut poursuivre l'étude d'autres facteurs au laboratoire et confirmer les conclusions avec les essais en cave. Nous sommes convaincus qu'il serait également utile d'étudier la composition de l'extrait de levure pour expliquer son influence activante.

INTERVENTION DE P. BIDAN

Station de Technologie Végétale,
Institut National de la Recherche Agronomique, versailles (France)

Travaux récents de la Station de Versailles

Après le remarquable rapport de M. FORNACHON, je me permets de présenter quelques remarques concernant les travaux effectués à la Station de Technologie végétale à Versailles, Station dirigée par M. BARRET, en accord avec M. DUPUY, puisque je parlerai de ses travaux.

MELAMED (*Ann. Tech. Agr.*, 1962, **11**, 5) a confirmé que les sucres résiduels des vins étaient constitués essentiellement d'hexoses, glucose et fructose et de pentoses, arabinose et xylose, et que la croissance des bacilles malolactiques était favorisée par la présence de glucides dans les milieux de culture. Les deux souches de ferments malolactiques qu'il a étudiés, attaquent surtout le glucose et l'arabinose, également le fructose, beaucoup plus lentement le xylose. Il est également possible d'avoir formation d'acide acétique dans le vin par action des ferments lactiques homofermentatifs sur les pentoses.

Dans un autre milieu que le vin ou le jus de raisin, dans le cidre, avec MAUGENET (*C.R. Acad. Agr.*, 1960, **6**, 358) nous avons observé un autre inconvénient de la fermentation malolactique quant à la stabilité du produit : l'acide lactique produit par la fermentation malolactique est un substrat qui peut être attaqué par d'autres microorganismes tels que les *Acetobacter* qui dans certaines conditions et dans le jus de pomme, donnent de l'éthanal et de l'acétylméthylcarbinol. Il y a succession d'espèces avec attaque de deux substrats acides : acide malique par les ferments lactiques, acide lactique par *Acetobacter* ; la maladie du « framboisé » du cidre en est un exemple.

Une autre remarque concerne le contrôle de la fermentation malolactique : DUPUY et MELAMED (84e *Congrès National des Sociétés Savantes*, 1959, 263) ont remarqué que le vieillissement du jus de raisin influait sur la croissance des ferments malolactiques. La croissance des souches de *Lactobacilles* était de plus en plus difficile sur le jus de raisin au fur et à mesure que ce dernier vieillissait. Ce phénomène peut s'expliquer par deux hypothèses : ou bien disparition de facteurs de croissance indispensables ou apparition de substances toxiques vis-à-vis des *Lactobacilles*. Or le traitement du jus de raisin par l'acétate d'éthyle permet d'extraire une partie des polyphénols non colorés qui possèdent une forte action inhibitrice sur le développement de la souche utilisée *(L. arabinosus)* à pH acide (3,25). Ce mélange extrait a été séparé en plusieurs fractions par chromatographie sur papier et les substances inhibitrices fluorescentes ont pu être localisées mais non définies (DUPUY, travaux non publiés). Notons d'ailleurs que les *Lactobacilles* poussent mieux sur milieu jus de raisin clarifié par la gélatine ou la caséine que sur le jus de raisin non traité.

Il a été également montré que l'addition d'hydrolysat trypsique de protéine au jus de raisin augmente la rapidité du développement et la quantité de ferments lactiques produits.

INTERVENTION DE E. PEYNAUD, Mlle S. DOMERCQ ET G. GUIMBERTEAU

Station Agronomique et Œnologique de Bordeaux

Travail de classification des bactéries lactiques des vins

Cette intervention a pour but de préciser l'état des travaux de la Station de Bordeaux dans l'étude détaillée d'un très grand nombre de souches de bactéries lactiques isolées de raisins, de moûts et de vins. Cette étude se poursuit depuis trois années environ et nous avons actuellement plus de 300 souches de bactéries à l'étude. Les travaux sont assez avancés pour 150 souches, quoique non terminés, et permettent d'établir un premier classement provisoire.

Rappelons que la différenciation des bactéries est basée sur la forme des cellules et sur l'étude des caractères physiologiques. Un examen microscopique précis, en faisant varier les conditions de culture, permet de séparer les bactéries en deux catégories : les coques (forme ronde) et les bacilles (forme de bâtonnet) ; cette première séparation est déjà délicate et dans certains cas on a pu parler de formes intermédiaires. La détermination des caractères physiologiques permet d'identifier le genre et l'espèce, et de distinguer tout d'abord les souches homofermentatives, provoquant une fermentation lactique pure, des souches hétérofermentatives, formant à côté de l'acide lactique de nombreux produits de fermentation : acide acétique, éthanol, glycérol et autres polyalcools, gaz carbonique, etc. Parmi les souches étudiées jusqu'à maintenant, 10 seulement (sur 150) sont homofermentatives.

Les tests de fermentation des différents sucres sont aussi importants pour l'identification des bactéries que pour celle des levures. Il semble que la fermentation des pentoses constitue une bonne base de différenciation. La chromatographie sur papier appliquée à un milieu de culture complexe peut renseigner directement sur les sucres et les acides organiques attaqués.

Les 150 souches étudiées se divisent de la façon suivante : 81 coques, dont 2 seulement homofermentatifs, et 69 bacilles, dont 8 homofermentatifs. La classification s'inspire des travaux de Garvie et de Rogosa. Parmi les 79 coques hétérofermentatifs, 21 n'attaquent pas les pentoses et s'apparentent à l'espèce *Leuconostoc dextranicum*. Les 58 autres appartiennent à l'espèce *Leuconostoc mesenteroides* ; on pourrait y distinguer les variétés suivantes : 24 attaquent à la fois l'arabinose et le xylose ; 18 attaquent l'arabinose seul ; 16 le xylose seul.

Les 8 bacilles homofermentatifs se divisent en *Lactobacillus casei*, n'attaquant pas les pentoses (4 souches) et en *Lactobacillus plantarum*, attaquant les pentoses (4 souches). La répartition des 61 bacilles hétérofermentatifs dans les espèces *fermenti*, *buchneri* et *brevis* n'est pas encore définitive. Les essais concernant les besoins en facteurs de croissance, les pH seuils, la réponse aux condition-d'aération, la résistance à l'alcool, et le métabolisme azoté se poursuivent.

Soulignons le comportement varié des souches en ce qui concerne la formation, jusqu'à maintenant non signalée, de nombreux polyalcools à partir du glucose : arabitol, érythritol, glycérol, mannitol même, ainsi que d'autres polyalcools inconnus. On a là un autre test possible de différenciation.

Le technicien du vin doit être persuadé de l'intérêt de la classification des bactéries et de l'importance pratique de telles recherches. C'est réellement la base fondamentale de l'expérimentation technologique dans l'étude de la fermentation malolactique et des maladies bactériennes des vins. La grande diversité dans le comportement des espèces des bactéries oblige à définir avant tout l'agent microbien. On ne peut contrôler qu'un microorganisme que l'on connaît bien, soit qu'on recherche son développement, par exemple pour déclencher et poursuivre une fermentation malolactique, soit au contraire qu'on recherche à l'inhiber pour éviter l'altération bactérienne d'un vin. Les noms de ces bactéries deviendront familiers aux œnologues, comme leur sont déjà familiers les noms des diverses levures du vin.

INTERVENTION DE E. PEYNAUD, Mlle S. DOMERCQ ET G. GUIMBERTEAU

Station Agronomique et Œnologique de Bordeaux

Travail de classification des bactéries lactiques des vins

Cette intervention a pour but de préciser l'état des travaux de la Station de Bordeaux dans l'étude détaillée d'un très grand nombre de souches de bactéries lactiques isolées de raisins, de moûts et de vins. Cette étude se poursuit depuis trois années environ et nous avons actuellement plus de 300 souches de bactéries à l'étude. Les travaux sont assez avancés pour 150 souches, quoique non terminés, et permettent d'établir un premier classement provisoire.

Rappelons que la différenciation des bactéries est basée sur la forme des cellules et sur l'étude des caractères physiologiques. Un examen microscopique précis, en faisant varier les conditions de culture, permet de séparer les bactéries en deux catégories : les coques (forme ronde) et les bacilles (forme de bâtonnet) ; cette première séparation est déjà délicate et dans certains cas on a pu parler de formes intermédiaires. La détermination des caractères physiologiques permet d'identifier le genre et l'espèce, et de distinguer tout d'abord les souches homofermentatives, provoquant une fermentation lactique pure, des souches hétérofermentatives, formant à côté de l'acide lactique de nombreux produits de fermentation : acide acétique, éthanol, glycérol et autres polyalcools, gaz carbonique, etc. Parmi les souches étudiées jusqu'à maintenant, 10 seulement (sur 150) sont homofermentatives.

Les tests de fermentation des différents sucres sont aussi importants pour l'identification des bactéries que pour celle des levures. Il semble que la fermentation des pentoses constitue une bonne base de différenciation. La chromatographie sur papier appliquée à un milieu de culture complexe peut renseigner directement sur les sucres et les acides organiques attaqués.

Les 150 souches étudiées se divisent de la façon suivante : 81 coques, dont 2 seulement homofermentatifs, et 69 bacilles, dont 8 homofermentatifs. La classification s'inspire des travaux de Garvie et de Rogosa. Parmi les 79 coques hétérofermentatifs, 21 n'attaquent pas les pentoses et s'apparentent à l'espèce *Leuconostoc dextranicum*. Les 58 autres appartiennent à l'espèce *Leuconostoc mesenteroides* ; on pourrait y distinguer les variétés suivantes : 24 attaquent à la fois l'arabinose et le xylose ; 18 attaquent l'arabinose seul ; 16 le xylose seul.

Les 8 bacilles homofermentatifs se divisent en *Lactobacillus casei*, n'attaquant pas les pentoses (4 souches) et en *Lactobacillus plantarum*, attaquant les pentoses (4 souches). La répartition des 61 bacilles hétérofermentatifs dans les espèces *fermenti*, *buchneri* et *brevis* n'est pas encore définitive. Les essais concernant les besoins en facteurs de croissance, les pH seuils, la réponse aux condition-d'aération, la résistance à l'alcool, et le métabolisme azoté se poursuivent.

Soulignons le comportement varié des souches en ce qui concerne la formation, jusqu'à maintenant non signalée, de nombreux polyalcools à partir du glucose : arabitol, érythritol, glycérol, mannitol même, ainsi que d'autres polyalcools inconnus. On a là un autre test possible de différenciation.

Le technicien du vin doit être persuadé de l'intérêt de la classification des bactéries et de l'importance pratique de telles recherches. C'est réellement la base fondamentale de l'expérimentation technologique dans l'étude de la fermentation malolactique et des maladies bactériennes des vins. La grande diversité dans le comportement des espèces des bactéries oblige à définir avant tout l'agent microbien. On ne peut contrôler qu'un microorganisme que l'on connaît bien, soit qu'on recherche son développement, par exemple pour déclencher et poursuivre une fermentation malolactique, soit au contraire qu'on recherche à l'inhiber pour éviter l'altération bactérienne d'un vin. Les noms de ces bactéries deviendront familiers aux œnologues, comme leur sont déjà familiers les noms des diverses levures du vin.

CONDITIONS DU DÉVELOPPEMENT DES BACTÉRIES ACÉTIQUES ET MESURES PRÉVENTIVES DANS LA CONSERVATION DES VINS

P. DUPUY et J. MAUGENET

Station de Technologie végétale, Institut National de la Recherche Agronomique, Versailles (France)

L'acescence était la maladie du vin la plus commune à l'époque où PASTEUR publiait ses études sur le vin. Les découvertes des ferments acétiques et de leurs conditions de vie ont permis de se prémunir efficacement contre cette altération. Elle est devenue de plus en plus rare dans la pratique et l'on peut dire que de nos jours les vins piqués résultent de graves négligences qui se sont produites au cours de leur conservation.

LES ESPÈCES RENCONTRÉES DANS LE VIN

La différenciation des diverses bactéries acétiques fut d'abord effectuée en tenant compte de leur origine et des caractères importants pour la fabrication du vinaigre : aspect du voile, trouble du milieu, concentration maximale de l'acide acétique formé (1). Les travaux de FRATEUR (2), SHIMWELL (3), ASAI et SHODA (4) ont permis de fonder ces différences sur des critères morphologiques et biochimiques et de proposer une classification naturelle des espèces en même temps que se précisait l'originalité de ce groupe. Bien qu'il existe encore quelques difficultés d'ordre taxonomique, on peut considérer comme satisfaisante la différenciation des espèces qui repose sur les cinq critères biochimiques retenus par FRATEUR (2).

Les espèces se répartissent alors en quatre groupes homogènes d'après la présence de catalase, l'oxydation de l'acide acétique et de l'acide lactique, le pouvoir cétogène et la formation de l'acide gluconique.

La classification des *Acetobacter* fournit même une excellente application du concept d'évolution régressive des espèces proposé par LWOFF (5). L'espèce dont toutes les autres pourraient dériver est *A. aceti* qui est prototrophe et possède à peu près toutes les potentialités biochimiques trouvées dans le groupe. Par perte du système d'oxydation de l'acide acétique et de l'acide lactique, on obtient les espèces du groupe suboxydans. Par perte du pouvoir cétogène, c'est le groupe oxydans qui

apparaît. Si en outre la possibilité d'oxyder le glucose et de former de la catalase disparaît, on obtient le groupe peroxydans.

Les quatre groupes se rencontrent dans le vin. Mais toutes les espèces n'y sont pas représentées ; il semble que les espèces prototrophes *A. peroxydans*, *A. lovaniense* et *A. aceti* soient absentes ou du moins assez rares puisque jusqu'ici nous ne les avons pas rencontrées. On remarque aussi que la moitié des souches isolées sont incapables d'oxyder le glucose. Ce large éventail d'espèces paraît propre au vin, car il ne se rencontre pas dans le cidre, qui ne contient que des représentants des groupes oxydans et mesoxydans. La présence constante de glucose dans le cidre doux semble sélectionner les souches capables de l'utiliser, puisqu'on en a isolé 96 % au lieu de 50 % dans le vin. La transformation du vin en vinaigre réduit le nombre des espèces présentes et fait apparaître *A. aceti* qui est vraisemblablement une espèce spécifique de vinaigrerie.

Les bactéries acétiques sont le plus souvent présentes sur les raisins et principalement sur les raisins altérés. On les trouve aussi sur le matériel des caves et on connaît depuis longtemps le rôle que jouent les drosophiles dans leur dissémination.

On pourrait se demander s'il ne se produit pas des changements dans les espèces d'*Acetobacter* au cours de la fermentation alcoolique du jus de raisin. En effet, Carr (6) a trouvé que dans le jus de pomme, les espèces du groupe suboxydans laissent graduellement la place à celles du groupe oxydans. Aucune étude analogue n'a été entreprise sur le raisin.

Développement des acetobacter dans le vin (7)

Besoin en oxygène. — La présence d'oxygène est généralement indispensable pour la multiplication des bactéries acétiques. C'est ainsi que dans le vin nous n'avons jamais observé de multiplication en bouteilles pleines, bouchées au liège et conservées couchées. Cependant Cozic (8) a montré que *A. xylinum* peut croître en anaérobiose et en présence de glycérol si l'on ajoute au milieu un accepteur d'hydrogène comme la thionine.

Les observations faites par l'un de nous dans le cidre confirment que les *Acetobacter* se multiplient malgré l'anaérobiose, vraisemblablement en utilisant les accepteurs d'hydrogène présents naturellement dans le milieu. Il semble bien que dans le vin une telle multiplication des *Acetobacter* ne soit pas possible. En effet, lorsqu'on observe leur multiplication sur du vin, on constate que le voile se forme à partir des cellules restées en surface et plus spécialement de celles retenues par les forces capillaires au contact des parois et du liquide.

Dans les expériences de laboratoire, il est d'ailleurs beaucoup plus difficile d'obtenir des ensemencements reproductibles avec les *Acetobacter* qu'avec les levures.

Influence du pH. — C'est un fait d'observation, courant en œnologie, que les bactéries acétiques ne se développent plus dans le vin au-dessous d'un certain pH. Le voile, s'il s'en forme un, est alors uniquement constitué par des *Candida*. Lorsque le degré alcoolique est faible, 8°2, nous avons pu déterminer ce pH limite qui se trouve autour de 3.

Influence de l'éthanol. — La toxicité de l'éthanol est étroitement liée à celle des ions H^+. Pour un vin donné, il est possible de déterminer à chaque degré alcoolique, le pH qui empêchera le développement des *Acetobacter*. Dans une de nos expé-

riences, ce pH varie de 3,0 pour 8°5 d'alcool à 3,4 pour 12°5. Pour des vins de types très voisins on peut encore prévoir, par connaissance du degré alcoolique et du pH, s'ils sont susceptibles d'être atteints d'acescence. Malheureusement cela ne peut être généralisé lorsqu'on considère des échantillons de vins de provenances diverses.

Autres facteurs. — Les autres facteurs ont peu d'influence sur la vitesse de développement des *Acetobacter* dans le vin. Puisque ces organismes métabolisent surtout l'éthanol, il n'est pas étonnant que la présence de sucres résiduels n'ait pas d'action sur leur développement. Les sels minéraux sont toujours en quantité bien suffisante pour permettre leur croissance. A cause de leur teneur élevée en cytochromes, on pouvait penser que ces organismes avaient besoin de beaucoup de fer. Lorsqu'on réduit au-dessous de 1 mg par litre la quantité de fer présente dans le vin par un traitement au ferrocyanure ou au phytate de Ca, les *Acetobacter* s'y multiplient encore. Les vins conservés avec un excès de ferrocyanure ne permettent plus la croissance au bout de quelques semaines, mais cela est dû vraisemblablement à une lente production de dérivés cyanés, qui ont d'ailleurs été mis en évidence par des méthodes chimiques par NÈGRE et CORDONNIER (9), puis JAULMES (10).

Nous avons constaté que l'augmentation de la teneur en tanins du vin n'empêche pas le développement des *Acetobacter*, mais le retarde légèrement. Cependant il est intéressant de noter que la quantité de tanins augmente la consistance du voile. Cela pourrait être dû à l'insolubilisation des tanins provoquée dans le voile par la production d'acétaldéhyde. Une conséquence de l'action des tanins est que pour un cépage déterminé, le vin rosé se pique plus facilement que le rouge correspondant.

En pratique l'aptitude d'un vin à l'acescence est mise en évidence par l'augmentation d'acidité au cours de l'épreuve de tenue à l'étuve. Cette épreuve intègre l'influence des divers facteurs et peut donner des résultats très utiles chaque fois que le vin est destiné à séjourner en récipients à moitié pleins : vente à la tireuse, distribution par l'intendance militaire.

RÉSULTATS DU MÉTABOLISME DANS LE VIN

La transformation la plus importante que produisent les *Acetobacter* dans le vin est l'oxydation de l'éthanol en acide acétique. Lorsque le processus microbien est abandonné à lui-même, l'alcool peut disparaître entièrement et se retrouver pour 90 % environ, à l'état d'acide acétique. C'est ainsi que se déroule le plus ancien des procédés de fabrication du vinaigre, le procédé d'Orléans.

Alors que les connaissances biochimiques sur le mécanisme des fermentations se développaient pour aboutir vers 1930-1940 à des schémas très détaillés, nos connaissances sur le mécanisme de la fermentation acétique ne faisaient presque aucun progrès. Le seul point définitivement acquis était le rôle d'intermédiaire joué par l'éthanal. Depuis quelques années, à la suite des progrès réalisés dans le domaine des cytochromes bactériens, nous voyons beaucoup plus clairement les diverses étapes biochimiques de cette fermentation.

Les travaux de PRIEUR avec *A. xylinum* (11), de DE LEY avec *A. peroxydans* (12), de NAKAYAMA avec *A. sp.* (13) et de DUPUY et MAUGENET avec *A. rancens* (14), ont maintenant établi qu'il existe deux voies responsables de l'oxydation de l'éthanol.

TABLEAU 1

Flore d'Acetobacter dans divers milieux

	VIN Nbre de souches identifiées 36		CIDRE DOUX Nbre de souches identifiées 47		VINAIGRE DE VIN Nbre de souches identifiées 13	
Groupe *peroxydans*	*A. paradoxum*	32 %				
Groupe *oxydans*	*A. ascendens*	19 %	*A. ascendens*	4 %		
	A. rancens	24 %	*A. rancens*	50 %	*A. rancens*	54 %
			A. rancens (saccharovorans)	20 %		
Groupe *mesoxydans*			*A. aceti*	6 %	*A. aceti*	39 %
			A. xylinum	2 %		
	A. mesoxydans	19 %	*A. xylinum (xylinoïdes)*	4 %		
			A. mesoxydans	4 %	*A. mesoxydans*	7 %
			A. mesoxydans (saccharovorans)	4 %		
Groupe *suboxydans*	*A. suboxydans*	6 %				

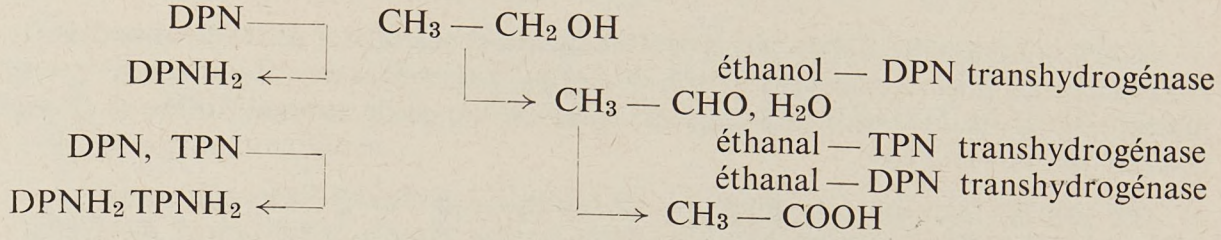
TABLEAU 2

Formation et hydrolyse de l'acétate d'éthyle en anaérobiose par Acetobacter

Temps en minutes	Acétate d'éthyle en mmol par l	
	Avec addition d'acétate d'éthyle	Sans addition
0		4,2
7	40,4	
18	33,7	
22		7,3
50	27,6	
54		13,2
92	23,3	
96		14,5
127	20	
133		13,3
1 054	17,3	
1 060		14,9

Dosages effectués sur du vin en cours d'acétification, placé en anaérobiose à 30 °C.

La plus anciennement connue met en jeu des transporteurs d'hydrogène dans le schéma suivant :



Cette voie est identique à celle que l'on connaissait dans la levure et le foie des mammifères. Elle met en jeu des enzymes et des coenzymes solubles et peut fonctionner en anaérobiose en présence d'accepteurs d'hydrogène. Ces découvertes confirment donc les idées développées par WIELAND et BERTHO (15).

Lorsqu'on broie les *Acetobacter*, on constate qu'on ne retrouve qu'une faible proportion de l'activité dans la partie soluble et que la partie la plus importante reste associée à des débris cellulaires de tailles différentes. L'oxydation de l'éthanol et de l'éthanal se fait alors directement par des enzymes liées à des cytochromes transporteurs d'électrons. Les *Acetobacter* contiennent en quantité importante un cytochrome insoluble qui paraît être caractéristique du genre. En attendant d'être mieux renseigné sur sa composition, on le désigne par la position de sa bande α, soit 553 mμ. Il n'est pas impossible que ce cytochrome soit voisin ou identique du cytochrome C_1, qui a été retrouvé à faible concentration dans de nombreux produits biologiques.

NAKAYAMA (13) a séparé et purifié l'éthanol-cytochrome 553 réductase et l'aldéhyde réductase indépendante des coenzymes. Ces enzymes sont caractéristiques des bactéries acétiques et expliquent les particularités de leur métabolisme. Cette seconde voie d'oxydation confirme les idées développées par WARBURG (16).

Les enzymes solubles utilisant le DPN ou le TPN sont actives entre pH 7 et 9, alors que celles utilisant les cytochromes, qui sont liés à des particules, sont actives entre 4 et 7. Cela explique pourquoi en substituant une voie à l'autre, les *Acetobacter* peuvent oxyder l'éthanol avec une vitesse presque constante entre pH 3,8 et pH 8. C'est aussi pour cette même raison, que les courbes représentant la cinétique de l'oxydation de l'éthanol possèdent deux pentes bien distinctes, car l'affinité de chaque système pour l'éthanol est différente.

On peut se demander pourquoi l'acide acétique s'accumule dans le milieu, alors qu'il est démontré que de nombreuses espèces d'*Acetobacter* sont capables de l'oxyder. Nous savons bien par l'étude du pH optimal de cette réaction, qu'elle est très lente en milieu acide, pH 3 à 4, alors que dans ces conditions l'oxydation de l'éthanol est très rapide. Cela ne suffirait pas, et il est fort possible que le métabolisme de l'éthanol inhibe celui de l'acide acétique d'une façon qui nous est encore inconnue.

Dans les vins, les *Acetobacter* produisent aussi une estérification de l'alcool et de l'acide acétique, étudiée par PEYNAUD (17). Cela est particulièrement gênant à cause de l'odeur désagréable de ce composé. Les bactéries ne font qu'accélérer la formation de la quantité d'acétate d'éthyle qui dépend des concentrations respectives de l'alcool et de l'acide en présence. Le tableau 2 indique que cet équilibre peut être atteint aussi bien par valeur supérieure que par valeur inférieure. La réaction d'estérification se produit en anaérobiose.

Inhibition par l'acide sulfureux

Dans la flore naturelle du vin, il semble que les *Acetobacter* se révèlent comme les organismes les plus sensibles à l'action de l'anhydride sulfureux. Il provoque une inhibition de la fermentation acétique et après un temps de contact suffisant la destruction des *Acetobacter*.

Le tableau 3 montre le pouvoir antiseptique de l'anhydride sulfureux sur *A. rancens* en fonction de la concentration en antiseptique et du temps de contact. L'acide sulfureux apparaît dans cette expérience comme un antiseptique assez peu énergique et nécessitant un temps de contact particulièrement long.

Dans la pratique cependant il se montre particulièrement efficace et nous pensons qu'une dose de 100 mg par litre doit dans tous les cas être bien suffisante pour empêcher un développement des *Acetobacter*.

Voici un exemple. Un vin ensemencé avec *A. rancens* laisse apparaître après 3 jours un voile qui représente une population de 7.10^6 cellules par millilitre. On ajoute à ce moment 100 mg par litre d'anhydride sulfureux. L'acidité volatile s'élève en

Tableau 3

Pouvoir antiseptique de l'acide sulfureux pour A. rancens

Contact dans du vin dilué pH 3,6.

Organismes revivifiables mis en évidence par culture de 6 jours à 28 °C sur le même vin.

Teneur en SO_2 mg par l	Temps de contact en minutes					
	5	10	20	40	80	160
90	+	+	+	+	+	+
179	+	+	+	+	+	—
350	+	+	+	+	+	—
680	+	+	+	+	+	—
1 270	+	+	+	+	+	—
2 250	+	+	+	+	—	—
3 680	+	+	+	—	—	—

5 jours de 12 à 16 méq par litre et s'y maintient pendant 25 jours. Un contrôle bactériologique montre que tous les *Acetobacter* sont morts au 25e jour. Dans une autre expérience où l'ensemencement en *Acetobacter* était moins important, la dose d'acide sulfureux à introduire pour empêcher l'acescence n'était que de 50 mg par litre.

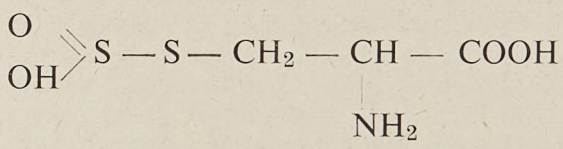
Dans la pratique œnologique, il suffit d'apporter cet anhydride sulfureux à la surface du liquide où se fait la multiplication des *Acetobacter*. On y parvient assez facilement en utilisant les diverses bondes à barboteurs garnies de solution sulfureuse proposées par le commerce.

Le mode d'action de l'acide sulfureux sur les bactéries acétiques a pu être précisé en étudiant l'inhibition d'une réaction bien caractéristique de ces bactéries (18). C'est ce qui a été fait en choisissant la réaction d'oxydation de l'éthanol dont la vitesse a été mesurée par la technique micromanométrique de WARBURG.

On observe d'abord que pour une même dose de sulfite l'inhibition obtenue varie avec le pH de l'expérience. Autour de la neutralité l'acide sulfureux agit en se combinant à l'acétaldéhyde pour former un produit qui n'est plus oxydable. On a d'ailleurs constaté que la combinaison aldéhyde sulfite n'est pas inhibitrice. En milieu acide, l'acide sulfureux se comporte comme un inhibiteur réversible de l'oxydation de l'éthanol, d'autant plus actif que le pH est plus bas. En calculant les formes dissociée et non dissociée de l'acide sulfureux, on voit que l'inhibition est entre certaines limites proportionnelle à la forme non dissociée.

Lorsqu'on utilise du sulfite radioactif, il est facile d'observer qu'il se combine avec les cellules bactériennes et cela dans des conditions assez identiques à celles où il produit l'inhibition. En particulier cette fixation est réversible par un simple lavage. Elle est sous la dépendance du pH et se comporte comme si les seules molécules non dissociées étaient susceptibles de se fixer sur les bactéries.

On a pu préciser que cette fixation est le fait d'une réaction chimique particulière de l'acide sulfureux avec les composés à groupement SH. En utilisant la spectrophotométrie, on observe que le sulfite réagit sur la cystéine pour donner un composé qui est vraisemblablement le thiolester :



La formation de ce composé est favorisée en milieu acide.

Ces résultats apportent quelques indications sur le mode d'action de l'acide sulfureux en tant qu'antiseptique microbien. Plusieurs explications avancées doivent être écartées. Il semble bien que ses propriétés réductrices, qui existent aussi bien en milieu acide qu'en milieu neutre, soient ici hors de cause. Son action autolytique observée sur les cellules végétales n'a pu être mise en évidence sur les *Acetobacter*. Le blocage du métabolisme par formation d'une combinaison avec l'éthanal ne peut être retenu, car cette combinaison n'a pas été trouvée dans le milieu à pH bas. On sait aussi que le sulfite donne un produit d'addition avec le DPN, et qu'il peut, pour cette raison, produire l'inhibition d'enzymes à DPN. Mais dans ce cas, le sulfite est inhibiteur en milieu neutre et il est compétitif avec le substrat.

A la suite des recherches faites avec *Acetobacter*, il semble très vraisemblable que l'action inhibitrice de l'acide sulfureux est le résultat d'une réaction d'estérification avec les fonctions SH des protéines enzymatiques. Tout est parallèle entre les

deux réactions : la réversibilité, l'effet du pH, la constante d'équilibre et la constante d'inhibition. L'action bactéricide pourrait alors se produire par suite de l'arrêt du métabolisme dans un milieu acide particulièrement défavorable aux microorganismes.

Conclusion

Les *Acetobacter* constituent actuellement un problème mineur pour l'œnologie. Leur présence est facilement décelable à cause de leur multiplication en surface sous forme de voile. Ils ne sont plus redoutés du praticien qui dispose avec l'acide sulfureux d'une arme efficace pour les détruire.

Au point de vue biochimique, la fermentation acétique fut une des dernières à livrer le secret de son mécanisme. Les théories de Wieland et de Warburg, qui semblaient contradictoires à l'époque où elles furent proposées, sont maintenant conciliées par la découverte d'une double voie d'oxydation de l'éthanol.

Références bibliographiques

(1) W. Henneberg. *Gärungsbakteriolog. Praktikum*, 1909. (2) Frateur. *La cellule*, 1950, **53**, 287. (3) J.L. Shimwell. *Antonie v Leeuwenhoek*, 1959, **25**, 49. (4) T. Asai et K. Shoda. *J. Gen. Appl. Microbiology*, 1958, **4**, 289. (5) A. Lwoff. Hermann Edit., Paris, 1943. (6) J.G. Carr. Symposium sur les concentrés de jus de fruits, Bristol, 1958. (7) P. Dupuy. *Ann. Techn. agr.*, 1957, 391. (8) M. Cozic. Thèse, Bordeaux, 1933. (9) E. Negre et R. Cordonnier. *C.R. Acad. agr.*, 1952, **38**, 346. (10) P. Jaulmes. Projet de méthodes officielles pour l'analyse des vins. Service de Répression des Fraudes, 1962.

(11) P. Prieur. *C.R. Acad. Sc.*, 1957, **244**, 253. (12) De Ley. *J. Appl. Bact.*, 1960, **23**, 400. (13) T. Nakayama. *J. of. Biochem. (Japon)*, 1961, **49**, 158. (14) P. Dupuy et L. Maugenet. *Ann. Techn. Agric.*, 1962, **11**, 219. (15) H. Wieland et A. Bertho. *Liebig Ann.*, 1928, **467**, 95. (16) O. Warburg, E. Negelein et E. Haas. *Biochem. Zts.*, 1933, **266**, 1. (17) E. Peynaud. *Ann. des Ferm.*, 1936, **2**, 367. (18) P. Dupuy. *Ann. Techn. agric.* 1959, **8**, 224 et 337.

Résumé

Des travaux récents effectués par des chercheurs de divers pays ont permis d'élaborer une classification satisfaisante du genre *Acetobacter*. Les espèces rencontrées dans le vin sont toutes auxotrophes et la moitié d'entre elles n'utilise pas le glucose. La flore acétique est différente de celle rencontrée dans le vinaigre de vin ou le cidre.

L'oxygène est indispensable pour le développement d'*Acetobacter* dans le vin. Leur croissance peut être empêchée par l'action conjuguée de l'acidité (pH) et de la teneur en alcool. Dans certains cas on a pu prévoir le développement de l'acescence grâce à ces deux facteurs. Les autres facteurs, teneur en glucose, en tanin, en fer, sont beaucoup moins importants.

Dans le vin les *Acetobacter* transforment l'éthanol en acide acétique avec comme stade intermédiaire l'éthanal. Ces réactions sont produites en milieu neutre par des déshydrogénases solubles liées au DPN et TPN et en milieu acide par des enzymes insolubles directement liées au cytochrome 553. Les *Acetobacter* catalysent aussi la production d'acétate d'éthyle, même en anaérobiose.

L'anhydride sulfureux est très efficace pour lutter contre ces microorganismes. Au pH du vin il agit rapidement comme bactériostatique et beaucoup plus lentement comme bactéricide. En étudiant son action en tant que inhibiteur de l'oxydation de l'éthanol, on a pu montrer qu'elle était vraisemblablement due à une réaction avec les groupements SH (thiol ester) qui est facilement réversible.

CONDITIONS OF ACETIC BACTERIA GROWING AND PREVENTIVE MEASURES FOR WINE PRESERVATION

P. DUPUY and J. MAUGENET

Summary

Recent research work by scientists from various countries has led to a satisfactory classification of the *Acetobacter* genus. All the bacteria found in wine are auxotrophe while half of them do not use glucose. The acetic flora in wine is different from that in wine vinegar or cider.

Oxygen is essential to the *Acetobacter* development in wine. Their growth can be counteracted through the combined action of acidity (pH) and alcohol content. In some cases, it has been possible to anticipate the acescence development thanks to these two factors. As for other factors, glucose, tannin or iron content, they are of a far lesser importance.

In wine, *Acetobacter* turn ethanol into acetic acid, the intermediary stage being ethanal. These reactions are brought about, in a neutral medium, by soluble dehydrogenases associated with DPN and TPN and, in an acid medium, by insoluble enzymes directly connected with cytochrome 553. Acetobacter also catalyse the ethyl acetate yield even in anaerobiose.

Sulfur dioxide is very efficient against these microorganisms. At the pH of wine, it acts rapidly as a bacteriastatic and, much more slowly, as a bacteriacide. The study of the action of sulfur dioxide as an inhibitor of the oxydizing of ethanol has shown that it was very likely due to a reaction with the SH groups (thiol ester) which is easily reversible.

BEDINGUNGEN DER ENTWICKLUNG VON ESSIGBAKTERIEN UND VORBEUGENDE MASSNAHMEN ZUR ERHALTUNG DER WEINE

P. DUPUY und J. MAUGENET

Zusammenfassung

Die jüngst ausgeführten Arbeiten von Forschern aus verschiedenen Ländern haben es erlaubt, eine zufriedenstellende Klassifizierung der Gattung *Acetobacter* auszuarbeiten. Die im Wein vorkommenden Arten sind alle auxotroph und die Hälfte von ihnen kann Glukose nicht verwerten. Die essigsäurebildende Flora ist verschieden von der im Weinessig oder im Apfelwein vorkommenden.

Der Sauerstoff ist für die Entwicklung von *Acetobacter* im Wein unentbehrlich. Ihr Wachstum kann durch die gleichzeitige Wirkung der Säure (pH) und des Gehaltes an Alkohol verhindert werden. In gewissen Fällen konnte man die Entwicklung des Essigstiches auf Grund dieser beiden Faktoren voraussehen. Die anderen Faktoren, der Gehalt an Gerbstoffen und Eisen, sind viel weniger ausschlaggebend.

Im Wein verwandeln die *Acetobacter* den Äthylalkohol über das Zwischenstadium Azetaldehyd in Essigsäure. Diese Reaktionen werden in einem neutralen Medium durch die löslichen Deshydrogenasen die an DPN und TPN gebunden sind, hervorgerufen, während sie im sauren Bereich durch die unlöslichen Enzyme, welche direkt an Cytochrom 553 gebunden sind, hervorgerufen werden. Die *Acetobacter* katalysieren sogar bei Sauerstoffausschluss die Bildung von Äthylazetat.

Die Schwefelige Säure ist sehr wirksam zur Bekämpfung der Mikroorganismen. Beim pH-Wert des Weines wirkt sie rasch bakteriostatisch und viel langsamer bakterizid. Beim Studium ihrer Wirkung zur Hemmung der Oxydation von Äthanol hat man zeigen können, dass diese wahrscheinlich auf einer Reaktion mit den SH-Gruppen (Thiol-ester) beruht, welche leicht umkehrbar ist.

CONDIZIONI DI SVILUPPO DEI BATTERI ACETICI E MISURE PREVENTIVE NELLA CONSERVAZIONE DEI VINI

P. DUPUY e J. MAUGENET

RIASSUNTO

Recenti ricerche effecttuate in diversi paesi hanno permesso di elaborare una soddisfacente classificazione del genere *Acetobacter*. Le specie riscontrate nel vino sono tutte oxotrofe e la metà di esse non utilizza il glucosio. La flora acetica è differente da quella riscontrata nell'aceto di vino o nel sidro.

L'ossigeno è indispensabile per lo sviluppo degli *Acetobacter* nel vino. Il loro sviluppo puó essere impedito con l'azione congiunta dell'acidità (pH) e del tenore in alcole. Grazie a questi due fattori, in certi casi, si puo prevedere lo sviluppo dell'acescenza. Gli altri fattori : tenore in glucosio, in tannino, in ferro, sono di gran lunga meno importanti.

Nel vino gli *Acetobacter* trasformano l'alcole etilico in acido acetico, passando, come stadio intermédio, per l'aldeide acetica. Queste reazioni sono prodotte, in mezzo neutro da deidrogenasi solubili legate al DPN e TPN, ed in mezzo acido da enzimi insolubili direttamente legati al citocromo 553. Gli *Acetobacter* catalizzano inoltre la produzione d'acetato di etile, anche in anaerobiosi.

L'anidride solforosa è molto efficace nella lotta contro questi microorganismi. Al pH del vino, la sua azione è principalmente batteriostatica e secondariamente battericida. Studiando la sua azione dal punto di vista della inibizione dell'ossidazione dell'alcole etilico, si è potuto dimostrare che essa era probabilmente dovuta ad una reazione, facilmente reversibile, con i gruppi SH (thiol ester).

CONDICIONES DEL DESARROLLO DE LAS BACTERIAS ACÉTICAS Y MEDIDAS PREVENTIVAS EN LA CONSERVATIÓN DE LOS VINOS

P. DUPUY y J. MAUGENET

RESUMEN

Trabajos recientes efectuados por investigadores de diversos paises, han permitido elaborar una clasificación satisfactoria del género *Acetobacter*. Las especies encontradas en el vino, son todas auxotrofas y la mitad de ellas no utilizan la glucosa. La flora acética es diferente de la encontrada en el vinagre de vino o en la sidra.

El oxigeno es indispensable para el desarrollo de *Acetobacter* en el vino. Su crecimiento puede ser impedido por la ación conjugada de la acidez (pH) y del contenido en alcohol. En ciertos casos se ha podido prever el desarrollo de la acescencia gracias a esos dos factores. Los otros factores contenido de glucosa, de tanino, de hierro, son mucho menos importantes.

En el vino, los *Acetobacter* transforman el etanol en ácido acético, teniendo como etapa intermedia el etanal. Estas reacciones son producidas en medio neutro por deshidrogenasas solubles unidas al DPN y al TPN, y en medio ácido, por enzimas insolubles directamente unidas, al citocromo 553. Los *Acetobacter* catalizan también la producción de acetato de etilo, aún en anaerobiosis.

El anhidrido sulfuroso es muy eficaz para luchar contra estos microorganismos. Al pH del vino actúa rápidamente como bacteriostático y mucho más lentamente como bactericida. Estudiando su acción como inhibidor de la oxidación del etanol, se ha podido demostrar que se debia, ciertamente, a una reacción con los grupos SH (tiol ester), que es fácilmente reversible.

DISCUSSION

M. Fornachon (Adelaide, Australie) : L'inhibition des *Acetobacter* par l'acide sulfureux est-elle entièrement due à l'acide sulfureux libre ou l'acide sulfureux combiné y prend-il également part ?

Réponse ; Les combinaisons bisulfitiques ne sont ni inhibitrices ni bactéricides sur les *Acetobacter*. Par exemple on peut, en ajoutant de l'acétaldéhyde, faire cesser l'inhibition de l'oxydation de l'éthanol réalisée par l'acide sulfureux.

Mme Jakubowska (Lódz, Pologne) : Les auteurs ont-ils déterminé le degré d'infection en *Acetobacter* rencontré le plus couramment dans les vins ? Dans le cas d'infection plus élevée, on peut attendre que l'activité des *Acetobacter* provoque des transformations chimiques et organoleptiques, même en l'absence d'oxygène dans les vins en bouteilles.

Réponse ; La question de la multiplication ou des modifications produites en anaérobiose par *Acetobacter* est très intéressante et nous nous la sommes nous-même posée. Dans les expériences que nous avons réalisées en utilisant 10^6 *Acetobacter* par ml, aucun effet n'a pu être décelé dans le vin. Par contre dans le cidre, dans les mêmes conditions, on observe une multiplication des bactéries et un métabolisme actif qui se manifeste par la production d'acétaldéhyde à partir de l'acide lactique.

M. Baillot d'Estivaux (Bordeaux) : Par quelle méthode avez-vous différencié les diverses bactéries ?

Réponse ; Pour identifier les *Acetobacter* du vin, il est nécessaire de commencer par obtenir des cultures pures, par exemple par étalement sur un milieu nutritif solide. Ensuite on met en évidence : 1° la présence de catalase en observant la décomposition de l'eau oxygénée ; 2° l'oxydation de l'acétate par diminution de l'acidité d'une culture sur éthanol ; 3° l'oxydation du lactate à la suite d'une culture sur lactate de calcium, par formation d'un précipité de carbonate de calcium ; 4° le pouvoir acétogène grâce à la formation à partir du glycérol ou d'autres polyols de corps réduisant la liqueur cupropotassique ; 5° la production d'acide gluconique grâce à l'acidification d'une culture sur milieu glucosé.

INTERVENTION de Mmes J. JAKUBOWSKA et A. PIATKIEWICZ
Chaire de Microbiologie Technique, École Polytechnique, Lodz (Pologne)

Quelques données sur les modifications chimiques des vins sous l'influence de la flore microbienne

Notre travail a pour but de déterminer l'influence du degré de contamination microbienne sur la stabilité des vins mis en bouteilles. A l'aide de l'analyse chimique et chromatographique, nous avons essayé de constater les phénomènes qui interviennent en bouteilles sous l'influence des micro-organismes.

Nous avons soumis à l'analyse vingt sortes de vins provenant de Yougoslavie, Bulgarie et Hongrie. Les analyses étaient effectuées sur les vins limpides au moment de l'embouteillage et, après conservation, sur les vins troubles sous l'influence de la flore microbienne.

Dans nos rapports antérieurs nous avons démontré que la stabilisation biologique des vins destinés à la mise en bouteilles dépend surtout du degré de pollution microbienne. Les relations réciproques de la durée de stabilité et du degré de contamination sont présentées sur la figure 1. Il faut considérer avant tout le développement de levures et la présence de bactéries lactiques comme cause essentielle de l'altération des vins.

Les analyses chimiques nous indiquent que l'activité de la microflore n'entraîne que des changements minimes au point quantitatif : augmentation d'alcool avec diminution de sucre et quelques

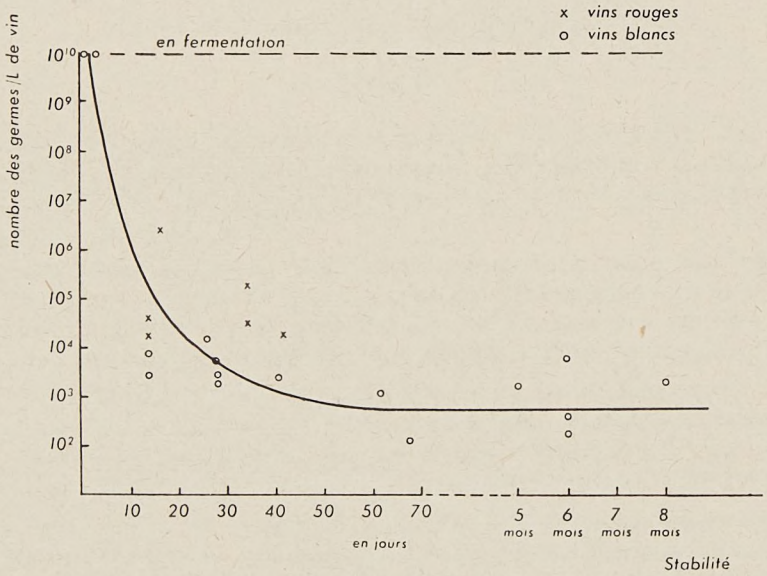


FIG. I.

évolutions de l'acidité totale et de l'acidité volatile. A l'aide de la méthode de chromatographie ascendante à une dimension, selon MICHOD, perfectionnée au point quantitatif dans nos recherches, on a pu identifier dans les vins examinés la présence de cinq acides organiques, avec une sensibilité de l'ordre de 0,1 à 0,2 g par litre : lactique, pyruvique, malique, citrique et tartrique (chromatogrammes de la fig. 2). Les phénomènes de rétrogradation de ces acides s'effectuent sous l'influence des cellules de levures et de la microflore variée. Il faut souligner qu'il ne s'agit pas d'une fermentation malolactique, la diminution graduelle des taches d'acide lactique sur les chromatogrammes en est le témoin. La rétrogradation de l'acide citrique et de l'acide pyruvique donne naissance à de l'acétoïne, substance retrouvée dans presque tous les échantillons examinés.

Notre travail essaie de démontrer qu'une contamination minime du vin mis en bouteille peut être la source d'une pullulation croissante et d'altération de la qualité des vins.

J. JAKUBOWSKA. L'analyse microbiologique des vins à l'aide des filtres à membranes. *Xe Congrès Int. de la Vigne et du Vin*, Tbilissi, 1962.

J. JAKUBOWSKA. Microbiologiczna kontrola gotowych win. *Przemysl Spozywczy*, 1963.

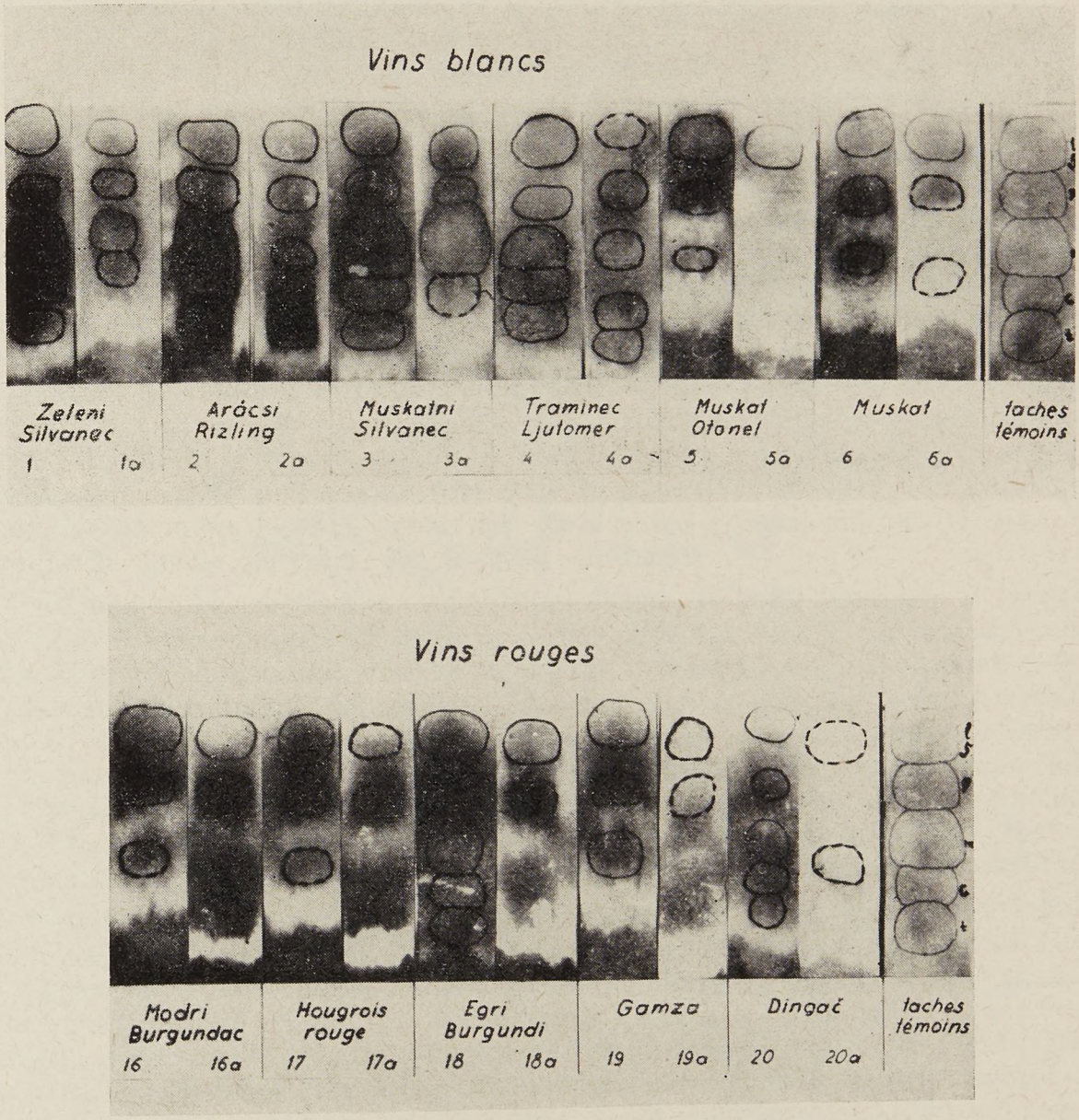


FIG. 2. — Chromatogrammes de vins normaux et altérés (a) par développement microbien. Tache témoins des acides : *l/s*, lactique et succinique ; *p*, pyruvique ; *m*, malique ; *c*, citrique ; *t*, tartrique.

ÉTAT ET ACTION DE L'ACIDE SULFUREUX DANS LES VINS RÈGLES DE SON EMPLOI

E. KIELHÖFER

Directeur de l'Institut Œnologique
de la Station d'Enseignement et de Recherches, Trèves (Allemagne)

Le thème proposé touche l'un des plus vastes et en même temps des plus importants domaines de l'œnologie pour l'élaboration du vin. Car l'acide sulfureux (qui, pas très correctement, mais pour simplifier, sera nommé SO_2) est depuis plusieurs siècles le produit d'utilisation indispensable à tous les stades de la vinification, depuis les vendanges jusqu'à la mise en bouteilles. A quelques petites différences près, c'est le cas pour les vins de tous les pays producteurs. C'est la raison pour laquelle, depuis très longtemps, on s'est partout occupé de recherches sur l'effet de l'acide sulfureux et de son utilisation opportune dans le vin. Il y a eu sur ce sujet beaucoup de publications, certainement plus que sur tout autre domaine de l'œnologie, et en particulier dans les dernières décades, depuis que dans la conservation du vin on essaie de remplacer l'acide sulfureux par d'autres substances.

Si malgré ces recherches, aujourd'hui encore, il existe beaucoup d'opinions confuses et même fausses sur l'effet de l'acide sulfureux dans le vin, non seulement dans la pratique, mais aussi chez les œnologues, cela est dû en grande partie à ce que l'acide sulfureux est une des substances les plus changeantes dans le vin. Ajouté au vin, il adopte d'une part rapidement plusieurs formes, aux propriétés et effets très différents, mais pouvant, d'autre part, se résorber mutuellement, et dépendant l'une de l'autre quantitativement. On ne peut avoir une idée exacte sur les effets possibles que l'acide sulfureux est capable d'avoir dans le vin, que si l'on connaît ces relations et si on en tient compte. En même temps, on apprendra à s'en servir de façon efficace.

Etant donné l'importance de ce sujet si complexe, il me serait ici impossible, de le traiter convenablement dans l'état actuel des recherches et des connaissances pratiques, en rendant compte des nombreuses publications, si je ne me trouvais dans l'heureuse position de pouvoir me servir de l'excellent et minutieux exposé que RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD ont consacré à ce sujet dans leur « Traité d'Œnologie » universellement connu et apprécié. Cet exposé s'étend dans la deuxième édition de cet ouvrage fondamental paru en 1960-1961, sur une longueur de plus de cent pages, réparties en plusieurs chapitres, beaucoup plus donc qu'il n'a été consacré à n'importe quel autre domaine de l'œnologie. Avec une perfection unique, ce traité tient égale-

ment compte de la bibliographie compétente parue jusqu'alors. En me référant à cet exposé, je peux me borner à donner un aperçu de l'ensemble, nécessaire à la compréhension, à citer les résultats des recherches publiées ultérieurement et à exposer quelques conclusions me paraissant nécessaires à l'utilisation de l'acide sulfureux. Je ne voudrais pas manquer de féliciter par la même occasion les deux auteurs pour leur ouvrage exceptionnel.

Les différentes formes de l'acide sulfureux dans le vin

Il est nécessaire tout d'abord de mentionner les diverses formes que peut prendre l'acide sulfureux dans le vin d'après nos connaissances actuelles. Lorsqu'on ajoute de l'acide sulfureux au vin, il se forme à côté de la solution aqueuse d'anhydride sulfureux, de l'acide sulfureux de formule H_2SO_3 par la liaison de ce gaz avec l'eau. Cet acide très fort se dissocie en donnant deux sortes d'ions : SO_3^{--} et HSO_3^-. Les quantités de ces deux ions contenues dans le vin à côté de l'acide non dissocié dépendent de la valeur du pH, et peuvent être calculées à partir de celui-là et des constantes de dissociation K 1 et K 2 des deux fonctions acides (1). Ces trois formes et le gaz sulfureux dissous sont nommés acide sulfureux libre dans l'analyse des vins.

Plus nombreuses, mais pour la plupart moins bien connues, sont les formes de l'acide sulfureux combiné dans le vin. Elles résultent du fait que l'acide sulfureux libre se combine plus ou moins rapidement et totalement à diverses substances du vin, partiellement inconnues encore. Les quantités de ces diverses combinaisons de l'acide sulfureux contenues dans le vin dépendent naturellement des proportions des substances susceptibles de combiner l'acide sulfureux, mais également, en raison de l'équilibre existant, de la quantité d'acide sulfureux libre, du pH du vin et finalement aussi de la température. Le vin contient beaucoup plus d'acide sulfureux combiné que d'acide sulfureux libre, de telle façon que la quantité totale d'acide sulfureux dépend presque uniquement de la quantité d'acide sulfureux combiné (voir le tableau suivant). Il sera donné par la suite un aperçu général sur les diverses formes de l'acide sulfureux, leurs propriétés et leurs actions dans le vin.

Effet antiseptique de l'acide sulfureux dans le vin

Il est considéré aujourd'hui comme un fait certain que l'effet antiseptique sur les microorganismes du jus de raisin et du vin est dû en grande partie à H_2SO_3 non dissocié, et non aux ions SO_3 ou HSO_3, et naturellement non plus à l'acide sulfureux combiné. L'acide sulfureux ne semble efficace qu'en présence d'humidité, et non à l'état de gaz entièrement sec (2), comme on l'a remarqué pour la stérilisation des bouteilles. La part de l'acide sulfureux libre ayant un effet antiseptique est nommée à juste titre d'ailleurs, acide sulfureux actif. La quantité d'acide sulfureux actif dans le vin est très réduite et diminue lorsque la valeur du pH augmente. De la façon mentionnée plus haut, on calcule par exemple que 100 mg d'acide sulfureux libre dans un vin très acide de pH 2,8 contiennent environ 10 mg d'acide sulfureux actif, alors qu'ils n'en contiennent que 1 mg environ à pH 3,8 (1). L'acide sulfureux a donc un effet antiseptique plus fort dans un vin acide, mais en même temps on y perçoit gustativement plus distinctement sa présence.

Dernièrement, Rehm et collaborateurs (3) ont publié une compilation de nombreux résultats de recherches de divers auteurs sur les quantités d'acide sulfureux nécessaires à l'inhibition du développement des bactéries, des levures et des moisissures. Comme ces auteurs, autant que possible, ont calculé chaque fois l'acide sulfureux

actif, ces résultats sont comparables entre eux. En prenant comme substrat le jus de pomme à pH 2,5 et 3,5, respectivement 9,4 mg et 20,2 mg d'acide sulfureux actif ont suffi pour empêcher le développement des levures elliptiques *(Saccharomyces ellipsoideus)* ; dans une solution nutritive synthétique seulement 4 mg par litre ont suffi. L'acide sulfureux a donc un effet antiseptique beaucoup plus puissant que tous les autres produits de conservation tels que l'acide benzoïque, l'acide sorbique, etc. même si pour ces acides qui sont nettement moins dissociés, on ne considère comme active que la forme non dissociée.

D'après les résultats publiés, des quantités beaucoup plus réduites d'acide sulfureux sont suffisantes pour inhiber le développement des bactéries, soit 0,03 à 0,07 mg par litre (résultats obtenus à pH 6,0). Pour les levures formant des voiles, *Hansenula* et *Pichia*, les concentrations indiquées comme inhibitrices, respectivement 0,6 et 0,2 mg par litre, sont également beaucoup plus faibles que pour *Saccharomyces ellipsoideus*. Même si ces résultats peuvent être influencés par des facteurs divers et incontrôlables, ils confirment quand même l'expérience (2) que le développement des bactéries dans le vin peut être réprimé par des quantités d'acide sulfureux très réduites. Une fraction très faible de la quantité nécessaire à inhiber les *Saccharomyces* est ici suffisante.

Comme il a été dit, la quantité d'acide sulfureux actif nécessaire à l'inhibition des *Saccharomyces* est elle-même très réduite. Mais pour obtenir cette concentration, l'acide sulfureux libre doit être de l'ordre de 200 à 600 mg par litre au pH du vin, c'est-à-dire une quantité défavorable au goût et dépassant les limites légales. A cela s'ajoute le fait que les levures peuvent rendre rapidement l'acide sulfureux inefficace par formation d'acétaldéhyde. Nous voyons en conclusion que l'effet antiseptique de l'acide sulfureux convient bien pour inhiber les bactéries et les levures dites « sauvages », mais ne convient pas pour une élimination durable des levures elliptiques. Pour cet usage, il existe d'autres substances antiseptiques efficaces qui seront évoquées dans d'autres rapports. Elles ont un effet antiseptique régulier sur tous les microorganismes du vin, ou même elles influencent davantage les levures que les bactéries.

C'est à cause de cet effet antiseptique sélectif que l'acide sulfureux ne pourra pas être entièrement remplacé par d'autres substances, en ce qui concerne la vinification. Il est surtout utile pour la conduite d'une fermentation pure. Dans ce but il suffit en général d'ajouter 50 à 100 mg par litre à la vendange ou au moût, doses qui non seulement n'inhibent pas les levures elliptiques, mais même les stimulent (4).

Le mécanisme de l'effet antiseptique de l'acide sulfureux est jusqu'à maintenant peu connu. En premier lieu, il faut certainement admettre un effet sur les enzymes des levures, par suite d'une addition sur leurs groupes actifs, comme cela a été démontré récemment pour différentes deshydrogénases (5, 6). En outre il faut tenir compte également d'un effet lytique sur la cellule de la levure, qui est plus fort pour l'acide sulfureux que pour d'autres substances antiseptiques (7). Par contre, l'opinion parfois indiquée que l'effet antiseptique de l'acide sulfureux est basé sur son pouvoir de réduction n'est pas soutenable, car d'autres substances au pouvoir réducteur beaucoup plus important, telles que l'acide ascorbique, ne possèdent pas cet effet (2).

COMBINAISON DE L'ACIDE SULFUREUX AUX CONSTITUANTS DU VIN

Comme déjà indiqué, la plus grande partie de l'acide sulfureux dans le vin est à l'état combiné, lié surtout à des fonctions carbonyles. De la même façon que l'effet antiseptique est lié à la forme non dissociée de H_2SO_3, on peut admettre que l'addition

aux constituants du vin a lieu sous forme de H_2SO_3, donc sous forme de bisulfite. Cette opinion est confirmée par le mécanisme de la réaction d'addition, mais aussi par le fait que cette combinaison d'addition est la plus stable dans les conditions de pH où H_2SO_3 se trouve surtout sous forme de bisulfite : plus de 75 % entre pH 2,5 et 4,5 (8), qui est aussi la gamme des pH des vins. Ces combinaisons d'addition se dissocient très rapidement à des pH plus élevés, surtout au-dessus de pH 7, pour lesquels l'ion sulfite peut exister. Dans le milieu très acide, dans lequel H_2SO_3 non dissocié est plus abondant, on a pu constater pour une partie des combinaisons d'addition que leur dissociation chimique augmente également.

Acide sulfureux combiné à l'acétaldéhyde. — On sait que le corps le plus important qui se combine à l'acide sulfureux dans le vin est l'acétaldéhyde, dont la combinaison représente 70 à 90 % de l'acide sulfureux combiné (voir tableau). Pour que la quantité d'acide sulfureux combiné, et par conséquent la quantité d'acide sulfureux total, ne soit pas trop élevée et ne dépasse pas la limite autorisée par la loi, il est nécessaire de veiller à ce que cette quantité d'acide sulfureux combiné soit aussi réduite que possible. Mais cela signifie que la quantité d'acétaldéhyde contenue dans le vin doit être elle-même réduite. Car l'acétaldéhyde contenue dans le vin doit être entièrement combinée à l'acide sulfureux. L'acétaldéhyde libre dans le vin blanc ne correspond pas au goût actuel (14). Une quantité inférieure à 10 mg par litre a déjà un net effet défavorable sur le goût. Par la combinaison à l'acide sulfureux, cet effet sur le goût est éliminé. La combinaison acétaldéhyde-acide sulfureux dans le vin n'a aucun goût particulier. Malgré des dégustations minutieuses effectuées par de nombreux experts, il nous a été impossible de révéler un goût caractéristique, bien que ces tests fussent effectués sur des vins contenant des quantités très grandes d'acide sulfureux combiné soit 729 mg d'acétaldéhyde-acide sulfureux par litre, ou 370 mg d'acide sulfureux combiné à l'acétaldéhyde (12).

Les facteurs pouvant influencer la formation d'acétaldéhyde pendant la fermentation ont été soumis à des recherches minutieuses, surtout par Mlles Lafon et Lafourcade à Bordeaux (9, 11). La cause principale d'une teneur élevée en acétaldéhyde est, comme nous avons pu aussi le confirmer, l'addition avant ou pendant la fermentation d'une quantité d'acide sulfureux insuffisante pour détruire les levures de telle façon que celles-ci neutralisent l'action de l'acide sulfureux ajouté, par la formation d'acétaldéhyde. Quand ce phénomène se répète plusieurs fois, il peut s'ensuivre une teneur extrêmement élevée d'acétaldéhyde. Comme valeur extrême nous avons trouvé dans un vin de table sucré 465 mg d'acétaldéhyde par litre, soit 674 mg d'acide sulfureux combiné à l'acétaldéhyde.

Egalement les levures non fermentatives peuvent former à partir de l'alcool au contact de l'air une quantité notable d'acétaldéhyde, propriété qu'on utilise dans la préparation des vins de Xérès.

La structure de la combinaison acétaldéhyde-acide sulfureux est reconnue aujourd'hui comme acide hydroxyéthanolsulfonique. Comme l'a déjà remarqué Kerp, c'est un acide très fort comparable à l'acide chlorhydrique. En conséquence, on a recherché si on pouvait l'éliminer du vin, de la même façon que les acides minéraux, sans toucher aux acides organiques, à l'aide d'échangeurs d'anions très basiques. Ce serait le seul moyen de réduire, si nécessaire, la quantité d'acide sulfureux combiné, et donc d'acide sulfureux total, contenue dans le vin et de la maintenir au-dessous de la limite légale. Par évaporation ou par oxydation, ou encore par réduction au moyen de levures, on ne peut éliminer que l'acide sulfureux libre, contrairement à l'opinion très répandue dans la pratique. Autrement il se formerait de l'acétaldéhyde libre.

Dans de semblables essais, on a pu montrer (13) que par exemple, à l'aide de Dowex 1 sous forme tartrique, on pouvait atteindre une diminution de 426 à 328 mg par litre, mais qu'en même temps les acides du vin diminuaient également de 8,3 à 7,7 g par litre (en acide tartrique), le pH augmentait de 3,1 à 3,3 et la couleur diminuait de moitié environ.

La constante de dissociation de l'hydrolyse de l'acide hydroxyéthanolsulfonique qui a été évaluée à $2,4 \times 10^{-6}$ par KERP (15), valeur à nouveau confirmée récemment (16), est très faible. Cela signifie que contrairement à toutes les autres combinaisons d'addition d'acide sulfureux aux fonctions carbonyles, cet acide est à peine hydrolysé dans le vin, donc que l'acétaldéhyde y combine pratiquement la quantité équivalente d'acide sulfureux.

Ces observations ne sont pas uniquement valables au pH du vin, mais à tous les pH dans la zone acide, ainsi que pour une élévation de température, tout au moins jusqu'à la température du corps humain (37 °C).

Il en découle des déductions importantes au sujet de l'effet physiologique de l'acide hydroxyéthanolsulfonique (17). Le jugement de l'effet de l'acide sulfureux sur le corps humain est bien entendu réservé aux experts en médecine, mais il appartient aux œnologues de vérifier si les conditions auxquelles est soumis ce jugement correspondent à celles que présente l'acide sulfureux dans le vin. KERP et collaborateurs ont déjà montré que cet effet de l'acide sulfureux, ainsi que son action sur les microorganismes, appartient en grande partie, sinon totalement, à l'acide sulfureux libre. L'acide sulfureux combiné n'a d'effet que parce que l'élévation de la température dans le corps libère de l'acide sulfureux.

Comme la combinaison acétaldéhyde-acide sulfureux est de loin la plus stable dans le vin, on ne doit donc attendre de l'acide sulfureux combiné aucun effet physiologique ou seulement un effet très faible. Il n'est pas tenu compte de ce fait, surtout en Allemagne, dans les discussions très animées concernant la quantité totale maximale d'acide sulfureux dans le vin, exigée pour des raisons d'hygiène. On ne prend pas en considération que l'acide sulfureux a ici une autre fonction que son emploi comme moyen de conservation de produits variés.

Ce n'est que dans le vin que l'acide sulfureux a la mission de combiner l'acétaldéhyde libre et, ainsi, de neutraliser son effet sur le goût, de telle sorte que, en majeure partie, on ne la trouve dans le vin que sous forme de combinaison acétaldéhyde-acide sulfureux.

Ce n'est que lorsque les recherches sur l'effet physiologique de l'acide sulfureux seront effectuées avec cette combinaison, que la limite tolérable du point de vue hygiénique, déterminée de cette façon, correspondra aux conditions présentées dans le vin. Ainsi on évitera que soit fixée une limite ne tenant pas suffisamment compte des nécessités œnologiques.

Acide sulfureux combiné au glucose. — La quantité d'acide sulfureux combiné au sucre non fermenté des vins a été surestimée jusqu'à ces dernières années. On sait aujourd'hui que, de tous les sucres fermentescibles présents dans le vin, uniquement le glucose se combine avec l'acide sulfureux ; par contre le fructose et le saccharose n'en combinent pratiquement pas.

La constante de dissociation chimique de cette combinaison, appelée également acide glucosulfonique, s'élève aux pH des vins à 0,60 ou 0,70 (19, 20) et d'après DIEMAIR et collaborateurs (16) à 0,38. Elle est donc presque 10 000 fois supérieure à la constante de dissociation de l'acide hydroxyéthanolsulfonique. Cela signifie que

le glucose, contrairement à l'acétaldéhyde, ne combine qu'une fraction minime de la quantité d'acide sulfureux équivalente. L'importance de cette différence est démontrée par les chiffres suivants (21) : pour combiner 50 mg d'acide sulfureux dans une solution de 80 mg d'acide sulfureux par litre à pH 3,3, correspondant à un vin normal, il faut ajouter : 34 mg d'acétaldéhyde ou encore 280 g de glucose, soit environ 10 000 fois plus.

Il en résulte encore que la quantité d'acide sulfureux combiné au glucose ne dépend pas uniquement de la quantité de glucose présente, mais aussi de la quantité d'acide sulfureux présente et capable de réagir, c'est-à-dire de la quantité d'acide sulfureux libre dans le vin. Toute indication sur la quantité d'acide sulfureux combiné au glucose n'a donc de valeur que lorsqu'elle se rapporte à une quantité déterminée d'acide sulfureux libre. En accord avec d'autres auteurs, nous avons trouvé dans nos recherches effectuées à la température normale une valeur moyenne de 0,8 mg d'acide sulfureux combiné par gramme de glucose pour une teneur en acide sulfureux libre de 100 mg par litre, c'est-à-dire que 0,8 % seulement d'acide sulfureux libre se combine à 1 g de glucose à la température ordinaire. Il résulte de ces observations que l'acide sulfureux combiné au glucose est pratiquement sans importance pour les vins de table, même s'ils contiennent beaucoup de sucre non fermenté (voir tableau).

TABLEAU 1

Acide sulfureux résiduel et autres formes d'acide sulfureux dans différents vins
Teneurs en SO_2 exprimées en mg par litre. Dosages à 20 °C environ

Nos des vins	Nature des vins	Alcool g/l	Sucres réducteurs g/l	pH	SO_2 libre	SO_2 total	SO_2 combiné			
							total	à l'aldéhyde	au glucose	résiduel
1	Trierer Riesling, Auslese 1947	91,2	12,2	2,9	4	111	107	82	0,2	25
2	Kaseler Riesling, Auslese 1949	87,8	6,8	2,9	16	106	90	51	0,2	39
3	Trierer Riesling (sucré) 1956	73,3	11,6	3,3	28	227	199	183	0,4	15
4	Le même après addition d'un excès d'acétaldéhyde	74,6	11,4	3,3	0	235	235	235**	0	0
5	Trierer Riesling (sucré, fermentation sous pression) 1951	91,6	5,4	3,0	9	73	64	50	0,2	14
6	Le même, fermentation normale	91,6	1,5	3,0	6	99	93	93	0	0(?)
9	Trierer Riesling (sucré) 1955	83,1	13,4	3,3	22	164	142	127	0,8	14
10	Trierer Riesling (fermentation avec macération) 1950	78,5	1,3	3,0	0	46	46	46**	0	0
11	Detzemer Riesling 1948	69,4	1,8	3,1	25	130	105	67	0,2	38
12	Trierer Riesling, Auslese (pourriture noble) 1949	100,2	14,8	3,0	14	181	167	70	0,5	96
14	Saar-Riesling (raisins pourris) 1958	57,5	18,0	3,2	80	677	597	427	3,6	166*
17	Trierer Riesling, Auslese 1959	91,2	56,0	3,2	29	245	216	150	2,0	64

* Analysé par erreur probablement bien au-dessous de 20°C.
** Contenant encore de l'acétaldéhyde libre.

Par exemple pour une teneur en sucres réducteurs de 20 g par litre, dont presque toujours moins de la moitié est du glucose, l'acide sulfureux combiné à ce sucre atteint moins de 4 mg par litre pour 50 mg d'acide sulfureux libre.

La combinaison glucose-acide sulfureux dépend en grande partie de la température, contrairement à la combinaison acétaldéhyde-acide sulfureux. Par exemple à 37°C 20 % de l'acide sulfureux combiné au glucose est libéré à la température de la cave (20). Mais, comme déjà indiqué, la quantité de glucose-acide sulfureux dans le vin étant très réduite, la quantité absolue d'acide sulfureux libre qui peut se former, par exemple dans l'estomac, est extraordinairement faible, dans l'exemple indiqué de l'ordre de 1 mg par litre environ.

Les scrupules hygiéniques qui ont été exprimés contre les vins de table contenant du sucre non fermenté (22) au sujet de la libération d'acide sulfureux de la combinaison glucose-acide sulfureux à la température du corps humain, ne sont donc pas justifiés.

L'objection selon laquelle l'acide sulfureux combiné au glucose serait libéré surtout par les sucs gastriques « hypoacides » et « hyperacides » et pourrait ainsi provoquer des troubles de la santé de certains consommateurs, n'est pas soutenable non plus. Il a été démontré (19, 23) que l'hydrolyse de la combinaison glucose-acide sulfureux dépend un peu du pH, mais que justement au pH de ces sucs gastriques (environ 3 à 3,5) la quantité d'acide sulfureux libérée est plutôt inférieure à la quantité séparée dans des sucs gastriques d'acidité normale ou hyperacides ($pH < 1{,}6$). Comme déjà indiqué la quantité de glucose-acide sulfureux est déjà si réduite qu'elle ne peut, par conséquent, libérer qu'une quantité d'acide sulfureux minime, ne jouant aucun rôle par rapport à la quantité d'acide sulfureux libre déjà présente. Malgré cela, aujourd'hui encore, des scrupules sont manifestés du point de vue médical à à cet égard (24).

En ce qui concerne la combinaison de l'acide sulfureux à l'arabinose, le constituant principal des sucres non fermentescibles du vin, il en sera question au chapitre suivant.

Combinaison de l'acide sulfureux à d'autres constituants du vin (acide sulfureux résiduel). — L'acide sulfureux combiné à d'autres constituants qu'à ceux déjà nommés sera appelé acide sulfureux résiduel (en allemand Rest-SO_2 par analogie avec l'expression « Rest-*N* » par laquelle on comprend la part d'une substance en quantité *N*, que l'on ne peut pas ranger dans l'une des catégories de combinaisons de *N* déjà connues et qui reste après la soustraction de toute les combinaisons de *N* connues de la quantité totale de *N*). De la même façon on obtient l' « acide sulfureux combiné résiduel » dans le vin, en enlevant de l'acide sulfureux combiné l'acide sulfureux combiné à l'acétaldéhyde et au glucose.

Les substances qui provoquent la formation de l'acide sulfureux combiné résiduel sont des constituants du vin, pour lesquels l'hypothèse faite qu'un pouvoir de combinaison résulte de leur nature chimique est plus ou moins fondée, mais dont on ne possède aucune connaissance certaine, exception faite pour l'arabinose mentionné plus haut. Ce sucre est présent dans tous les vins et on connaît aussi ses combinaisons d'addition avec l'acide sulfureux (19). Cependant il est opportun de ne pas le citer séparément, mais de le ranger dans l'acide sulfureux résiduel, car l'arabinose n'est pas déterminé couramment et que par conséquent, on ne peut pas évaluer la quantité d'acide sulfureux qu'il combine.

Une combinaison de l'acide sulfureux à d'autres constituants du vin surtout aux polyphénols, a toujours été soupçonnée ; mais on n'a jamais eu l'idée exacte sur cette quantité car on considérait que l'acide sulfureux non combiné à l'acétal-

déhyde était combiné en grande partie aux sucres. Aujourd'hui on sait que cette quantité peut varier dans des limites très larges et même atteindre des valeurs très importantes qui peuvent dépasser celles de l'acide sulfureux lié à l'acétaldéhyde.

Après des recherches minutieuses que nous avons consacrées à cette question, nous avons vu tout d'abord que cette combinaison de l'acide sulfureux, ou plutôt, car il s'agit de plusieurs substances associées à l'acide sulfureux, ces combinaisons de l'acide sulfureux dépendent beaucoup de la concentration de l'acide sulfureux libre dans le vin, de la même façon que pour le glucose-acide sulfureux. Pour pouvoir comparer la teneur des vins en acide sulfureux combiné résiduel, il est donc nécessaire de rapporter cette valeur à la même quantité d'acide sulfureux libre.

Comme il s'agit de diverses combinaisons d'acide sulfureux aux propriétés différentes, cela n'est donc pas possible, comme pour le glucose-acide sulfureux, par un simple calcul. Il faut trouver le rapport expérimentalement en cherchant pour chaque vin l'acide sulfureux combiné résiduel pour des quantités différentes d'acide sulfureux libre. Ainsi on obtient la courbe des combinaisons de l'acide sulfureux résiduel. Sur celle-ci on pourra voir la quantité d'acide sulfureux résiduel pour une concentration en acide sulfureux quelconque.

De cette façon nous avons déterminé le contenu en acide sulfureux combiné résiduel pour des teneurs en acide sulfureux libre de 10, 50 et 100 mg par litre et à une température de 20 °C, pour un grand nombre de vins blancs vieux et jeunes, d'années de qualités diverses, de provenances différentes, spécialement des Riesling de la région viticole de la Moselle. Les valeurs pour certains de ces vins et les valeurs des autres formes de l'acide sulfureux dans ces vins sont données dans le tableau. Les courbes des acides sulfureux combinés résiduels de ces vins sont illustrées par le croquis. On voit que les valeurs de l'acide sulfureux combiné résiduel peuvent varier énormément et qu'elles augmentent, comme prévu, avec une teneur d'acide sulfureux libre croissante. Elles atteignent pour des teneurs en acide sulfureux libre de 10, 50 et 100 mg par litre respectivement entre 8 et 87 mg, 19 et 147 mg et 30 et 179 mg par litre.

TABLEAU 2

Acide sulfureux résiduel en fonction de la teneur en acide sulfureux libre

Dosages effectués exactement à 20 °C. Teneurs en mg par 1. Les teneurs en SO_2 libre ont été ajustées par addition de SO_2 ou d'acétaldéhyde.

N^{os} des vins (voir le tableau 1)	SO_2 libre 10 mg/l	SO_2 libre 50 mg/l	SO_2 libre 100 mg/l
1	43	69	78
2	28	65	79
3	10	19	30
4	14	42	77
5	16	52	60
6	9	36	47
9	8	23	35
10	85	144	158
11	24	52	61
12	81	147	179
14	87	140	157
17	19	67	88

Les courbes sont semblables à celles des fonctions logarithmiques tandis que celles du glucose-acide sulfureux en rapport avec l'acide sulfureux libre prennent un aspect linéaire. C'est dû à la combinaison beaucoup plus faible de l'acide sulfureux au glucose permettant ainsi un calcul beaucoup plus simple, mais qui ne peut pas être expliqué ici.

Des formes différentes des courbes, parfois montant brusquement parfois seulement peu inclinées, comme le montre la figure, on déduit que les combinaisons de l'acide sulfureux résiduel sont très différentes suivant les vins et que par conséquent les substances associées à l'acide sulfureux doivent être différentes en ce qui concerne leur nature et leurs propriétés.

Ainsi que pour la combinaison avec le glucose, l'acide sulfureux est libéré de l'acide sulfureux combiné résiduel par une élévation de température à 37 °C. Mais, comme prévu, la quantité d'acide sulfureux libéré varie selon les vins et selon les teneurs en acide sulfureux libre déjà présentes.

Pour avoir une idée sur les substances inconnues combinant de l'acide sulfureux nous avons tracé des courbes modèles, pour certaines concentrations de ces substances hypothétiques ayant des constantes de dissociation différentes. Je ne peux énumérer ici que quelques unes des conclusions qui découlent de la comparaison de ces courbes modèles avec les courbes de l'acide sulfureux combiné résiduel de la figure tracées pour des vins différents. On distingue tout d'abord que l'acide sulfureux combiné résiduel du vin se compose surtout d'un mélange de combinaisons ayant des valeurs K réduites ou moyennes, donc de combinaisons relativement stables. Il se compose aussi d'une petite quantité de combinaisons de valeur K plus grande, se rapprochant de celle de la combinaison glucose-acide sulfureux.

Si l'on considère les combinaisons de l'acide sulfureux seulement comme des combinaisons aux fonctions carbonyles, parmi les constituants du vin connus capables de combiner l'acide sulfureux, l'arabinose serait responsable d'une faible combinaison. Pour les combinaisons plus stables, donc de valeur K plus petite, nous avons été obligé d'abandonner notre hypothèse, selon laquelle il s'agissait en grande partie

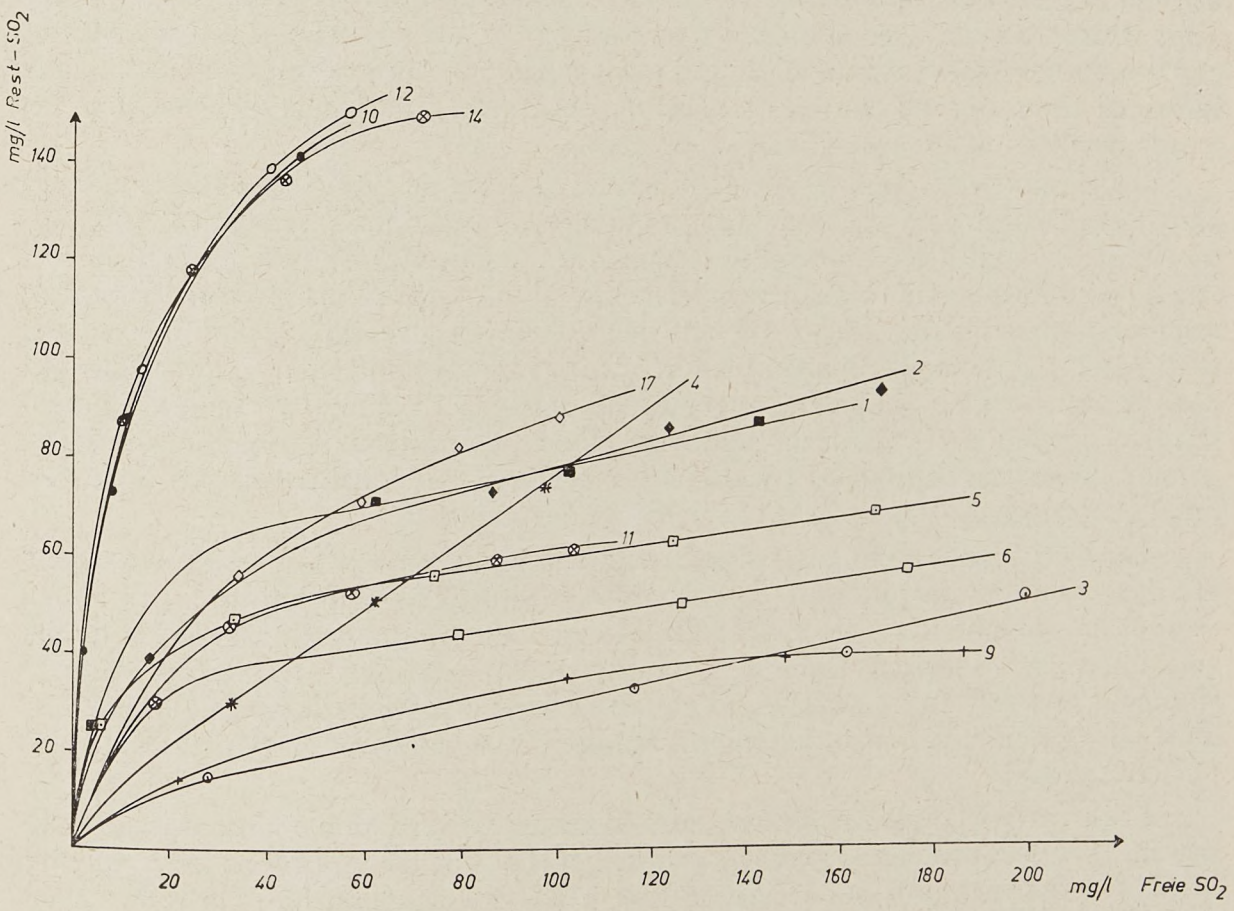


FIG. 1. — Courbes de combinaison du SO_2 résiduel de différents vins. Les numéros des courbes correspondent aux numéros des vins du tableau.

de combinaisons aux aldéhydes supérieures, particulièrement à la n-butyraldéhyde, qui est un des constituants les plus importants des substances aromatiques du vin, car la courbe de la combinaison obtenue n'est pas compatible avec celle des vins (courbes 10, 12, 14, de la figure). Nous avons dû également abandonner l'hypothèse que l'acétoïne et surtout le diacétyle jouent un grand rôle comme substances combinées à l'acide sulfureux, le diacétyle combinant de l'acide sulfureux et ces deux substances ayant été trouvées en grandes quantités dans le jus de fruits pourris ou gâtés (26, 27). Mais il a été prouvé que dans les vins provenant de raisins pourris qui contiennent beaucoup d'acide sulfureux combiné résiduel (n° 12 et 14 du tableau) il n'y a que des quantités insignifiantes de diacétyle et si peu d'acétoïne (28) que seulement 2 à 3 mg par litre d'acide sulfureux peuvent être combinés de cette façon.

Nous avons donc eu l'idée que les substances inconnues combinant de l'acide sulfureux devaient être en premier lieu des pectines et des matières mucilagineuses et leurs produits d'hydrolyse, après que INGRAM et VAS aient montré aussi de semblables combinaisons de l'acide sulfureux dans le jus d'orange. Egalement parce qu'on peut attendre des vins ayant le plus d'acide sulfureux résiduel qu'ils contiennent au plus haut point ces substances ; puisqu'il s'agit, comme on voit sur le tableau, de vins issus de raisins attaqués par le Botrytis ou bien de vins obtenus par la fermentation de la vendange avec macération.

En raison de nouveaux résultats obtenus sur du cidre de pommes et de poires (30, 31), on doit prendre en considération à côté de l'acide α-cétoglutarique, comme autres substances combinant de l'acide sulfureux, surtout l'acide pyruvique, bien qu'il n'ait pas encore été trouvé dans le vin, en raison peut-être de la capacité de ce produit intermédiaire de la fermentation de se combiner à l'acide sulfureux et de se dérober ainsi à toute observation et, en outre, parce qu'il doit certainement être rapidement décarboxylé. Des quantités très grandes d'acide pyruvique, jusqu'à 800 mg par litre, combinant environ 200 mg d'acide sulfureux pour 50 mg par litre d'acide sulfureux libre, ont été trouvées lorsqu'on a examiné, pendant la fermentation, des moûts de fruits ayant été sulfités au préalable.

On expliquerait ainsi les teneurs élevées d'acide sulfureux résiduel contenues dans un « Dosagewein », comme cela a été observé par nous et également par d'autres (16) ; il s'agit d'un vin dont la fermentation a été interrompue, alors qu'il contenait encore beaucoup de sucre non fermenté. D'autres produits intermédiaires de la fermentation à fonction carbonyle, tels que l'aldéhyde glycérique et la dioxyacétone pourraient encore jouer un rôle, bien que leur présence n'ait pas encore été signalée dans le vin. Comme, d'après ce qui précède, une grande quantité d'acide sulfureux résiduel dépend de l'état de la vendange et de son traitement, on doit considérer comme substances combinant l'acide sulfureux surtout les constituants précédemment indiqués provenant des tissus de la pellicule des raisins.

En dehors des combinaisons aux fonctions carbonyles, l'acide sulfureux pourrait être combiné par d'autres constituants du vin. Dans la littérature, on nomme surtout les polyphénols à cet égard (32), car on tient compte de l'observation qu'une addition d'acide sulfureux diminue la couleur du vin. Mais il n'a pas encore été établi sûrement aujourd'hui si la cause de ce fait observé n'est pas due à une réduction ; ainsi par exemple, la benzoquinone est réduite immédiatement en pyrocatéchine par l'acide sulfureux.

Il est probable que les aminoacides ayant un groupe thiol, ainsi que les polypeptides et les protéines, puissent combiner de l'acide sulfureux, bien que des résultats expérimentaux sur le vin ne l'aient pas encore confirmé. De toute façon, ces combinaisons ne seraient que peu importantes par rapport aux combinaisons avec les fonctions carbonyles.

On voit donc que d'après nos connaissances actuelles quelques uns des constituants du vin peuvent être retenus avec une bonne certitude comme substances combinant de l'acide sulfureux, tandis que d'autres peuvent être éliminés. Mais on est encore loin de pouvoir se faire une idée, même très générale, sur la composition de l'acide sulfureux résiduel dans les vins en contenant beaucoup. Des connaissances exactes à ce sujet seraient pourtant très utiles, notamment pour fixer une limite maximale à l'acide sulfureux total dans le vin.

Il ne reste plus qu'à faire ressortir l'importance œnologique de l'acide sulfureux combiné résiduel dans le vin. Je peux me borner à ajouter quelques compléments à l'exposé très détaillé, concernant ce sujet, de RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD (33). Le glucose-acide sulfureux ne jouant aucun rôle dans les vins de table et qu'un rôle sans importance dans les vins liquoreux contenant du sucre non fermenté constitué surtout de fructose, c'est donc sur l'acide sulfureux résiduel que sont basées la réversibilité des combinaisons de l'acide sulfureux et sa libération lors d'un changement de température. Si, d'après la méthode de MOREAU et VINET concernant la quantité d'acide sulfureux à ajouter dans un vin, il reste davantage d'acide sulfureux à l'état libre, après addition, dans un vin en contenant une faible dose, cela s'explique évidemment par le fait que la ligne de jonction entre les deux points déterminés sur le schéma de MOREAU et VINET n'est pas une ligne droite, mais une ligne courbe analogue à celle de la figure.

Si un vin contient beaucoup de substances combinant de l'acide sulfureux, il faut évidemment lui ajouter davantage d'acide sulfureux pour qu'il contienne suffisamment d'acide sulfureux libre. De tels vins sont appelés « Schwefelfresser » en Allemagne, c'est-à-dire avides d'acide sulfureux. Cette grande consommation n'est pas basée sur une oxydation plus élevée de l'acide sulfureux, comme on pourrait le croire, mais sur une plus grande quantité de combinaisons qui conduisent à une forte teneur en acide sulfureux résiduel. Les vins issus de vendanges atteintes de pourriture noble sont en général des vins de ce genre.

Une grande quantité d'acide sulfureux résiduel est en quelque sorte une source permanente d'acide sulfureux pour le vin. Par suite de la dépendance des combinaisons de l'acide sulfureux résiduel et de l'acide sulfureux libre, l'acide sulfureux est continuellement libéré de celles-ci lorsque l'acide sulfureux libre diminue dans le vin, par exemple par oxydation après un logement prolongé dans la cave. Ce vin contiendra encore de l'acide sulfureux libre, même si tout l'acide sulfureux libre qu'il contenait initialement a été oxydé ; et cela jusqu'à ce que l'acide sulfureux résiduel soit libéré entièrement. Ces phénomènes ont une grande importance, car ils peuvent empêcher la décomposition de la combinaison acétaldéhyde-acide sulfureux et par conséquent la libération de l'acétaldéhyde qui a un effet défavorable sur le goût, comme c'est le cas pour les vins ne contenant pas de semblables réserves d'acide sulfureux. Si les vins, provenant de raisins pourris nobles et contenant beaucoup d'acide sulfureux résiduel, vieillissent lentement, cela devrait être basé aussi sur leur meilleure conservation de l'acide sulfureux.

De même que l'acétaldéhyde, mais moins intensément et de façon moins désagréable, les substances provoquant la formation d'acide sulfureux résiduel, semblent avoir un effet sur le goût ; mais cet effet est éliminé par la combinaison à l'acide sulfureux. Car pour les vins contenant beaucoup de ces substances nous pouvons distinguer une nette différence gustative lorsqu'ils contiennent peu (10 mg par litre) ou beaucoup (47 mg par litre) d'acide sulfureux libre, c'est-à-dire lorsqu'une petite ou grande quantité de ces substances est combinée à l'acide sulfureux et que leur effet sur le goût est neutralisé de cette manière. On explique ainsi que de tels vins

soient influencés dans leurs qualités organoleptiques par une teneur différente en acide sulfureux libre.

Effet protecteur de l'acide sulfureux vis-a-vis des oxydations

Puisque cette question sera traitée dans un cadre plus restreint, je peux m'exprimer brièvement à ce sujet. Il faut tout d'abord distinguer les effets de l'acide sulfureux sur l'oxydation enzymatique et sur l'oxydation non enzymatique. Pour la première, il s'agit, comme on le sait, de la transmission accélérée de l'oxygène de l'air sur les constituants du vin, surtout les matières colorantes par la polyphénoloxydase provenant des raisins. On sait que l'augmentation de la couleur des vins blancs ainsi provoquée est empêchée dans la pratique par l'acide sulfureux, déjà dans la vendange ou dans le moût, ou au plus tard immédiatement après la fermentation. En général 50 à 100 mg par litre sont suffisants. L'effet de l'acide sulfureux est probablement basé sur une inactivation de l'enzyme par suite d'une addition aux groupes actifs de celle-ci. Même si, comme on l'admet actuellement (35), cette inactivation n'était pas totalement irréversible, le reste d'activité disparaîtrait rapidement par auto-inactivation de l'enzyme. Une fois protégé contre cette oxydation enzymatique, le vin restera donc toujours protégé.

Des processus d'oxydation encore peu connus ont lieu dans le vin, même sans l'intervention d'une enzyme, avec l'accès de l'oxygène pendant la conservation du vin en cave ; mais ceux-ci sont beaucoup plus lents. Certainement l'acide sulfureux doit absorber l'oxygène introduit pour les empêcher, c'est-à-dire qu'il fonctionne comme un accepteur d'oxygène, en s'oxydant lui-même en acide sulfurique. On peut en déduire que l'effet protecteur de l'acide sulfureux est d'autant plus grand qu'il accepte plus facilement l'oxygène, donc qu'il s'oxyde lui-même. C'est surtout le cas, comme on sait depuis longtemps (36), dans la zone des pH alcalins dans laquelle l'acide sulfureux est présent sous forme d'ions sulfites.

De la même façon que les deux autres effets de l'acide sulfureux sont en relation avec certaines formes, on peut aussi mettre son action antioxydante dans le vin en relation avec la forme sulfite. Comme cette quantité est très réduite au pH des vins, on ne peut pas s'attendre à un effet considérable de l'acide sulfureux dans ce domaine et d'autant moins que le vin est plus acide. Mais il ne faut pas négliger le fait que les sulfites sont en équilibre avec les autres formes et qu'après utilisation ils se reforment constamment.

La protection de l'oxydation par l'acide sulfureux est effectivement très faible, beaucoup plus faible que par d'autres substances. Cela se reconnaît distinctement dans les résultats obtenus par Ribéreau-Gayon (37), il y a déjà plus de trente ans, et que nous avons pu confirmer à notre tour en employant des méthodes de recherches nouvelles (13). D'après ces résultats, l'oxygène absorbé par le vin n'est combiné que lentement et partiellement à l'acide sulfureux, d'autant moins que la quantité d'acide sulfureux libre est plus petite. D'après nos recherches, par exemple, dans un vin saturé d'oxygène de l'air contenant 40 mg par litre d'acide sulfureux libre, au moins un tiers de l'oxygène n'est pas absorbé par l'acide sulfureux et peut se combiner aux autres substances oxydables du vin. Les deux autres tiers, environ 6 mg par litre, sont combinés à l'acide sulfureux seulement après une vingtaine de jours à la température ordinaire. En outre, seulement dans le cas où le vin contient une quantité notable de fer. Dans le vin dont la teneur en fer est inférieure à la limite décelable, l'acide sulfureux absorbe l'oxygène introduit encore beaucoup plus lentement. Nous avons trouvé par exemple que dans un tel vin, saturé d'air tous les jours,

20 mg d'acide sulfureux seulement avaient disparu après quatre mois environ, dont plus de la moitié par évaporation. Cela s'explique par la non-autooxydabilité de l'acide sulfureux et pour cette raison la présence de fer comme catalyseur d'oxydation est nécessaire.

On arrive donc à ce résultat que l'acide sulfureux empêche bien l'oxydation enzymatique très efficacement, mais que par contre il n'a qu'un effet très réduit sur les processus d'oxydation non enzymatiques qui ont lieu pendant le logement du vin dans des fûts de bois ou aussi en bouteilles si l'accès de l'oxygène est permis. Ces oxydations peuvent être empêchées par l'utilisation appropriée de l'acide ascorbique. Mais de plus il ne faut pas oublier que le type de goût actuel de nos vins est basé sur un usage séculaire de l'acide sulfureux. Il faut donc examiner minutieusement si ce goût n'est pas modifié par l'emploi de l'acide ascorbique et si cette modification trouve un écho favorable parmi les consommateurs.

Références bibliographiques

R.G. et P., I ou II signifie : J. Ribéreau-Gayon et E. Peynaud. Traité d'Œnologie, Tome I ou II, Béranger, 1960 et 1961.

(1) R.G. et P., II, 612. (2) R.G. et P., 11, 655. (3) H.J. Rehm et H. Wittmann. *Zeits. Lebens. Unters. Forsch*, 1962, **118**, 414. (4) R.G. et P., 1, 499. (5) G.D. Pfleiderer et coll. *Bioch. Zeits.*, 1956, **328**, 187. (6) K. Wallenfels et coll. *Bioch. Zeits*, 1957, **329**, 78. (7) E. Kielhöfer et H. Aumann. *Zeits. Lebens. Unters. Forsch.*, 1956, **105**, 284. (8) M.A. Joslyn et J.B. S. Braverman. *Adv. Food. Res.*, 1954, **5**, 100. (9) R.G. et P., 11, 654, 617. (10) E. Kielhöfer et G. Wurdig. *Weinb. u. Keller*, 1960, **7**, 16, 50.

(11) R.G. et P., 11, 1034. (12) E. Kielhöfer. *Weinb. u. Keller*, 1958, **5**, 573. (13) E. Kielhöfer et G. Wurdig. Non publié. (14) R.G. et P., 11, 233. (15) R.G. et P., 11, 615. (16) W. Diemair, J. Koch et D. Hess. *Zeits. Lebens. Unters. Forsch.*, 1960, **113**, 277. (17) E. Kielhöfer. *Weinb. u. Keller.* 1958, **5**, 61. (19) R.G. et P., II, 618. (20) E. Kielhöfer. *Weinb. u. Keller*, 1958, **5**, 461.

(21) E. Kielhöfer. *Deutsch. Weinztg*, 1960, **96** (*Wein u. Rebe* 42) 14. (22) H. Schanderl. *Zeits. Lebens. Unters. Forsch*, 1953, **103**, 379. (23) E. Kielhöfer. *Weinb. u. Keller*, 1958, **5**, 461, 523. (24) H. Kliewe et G. Gillisen. *Bull. Intern. Vin*, 1962, **35**, 1664. (25) E. Kielhöfer et G. Würdig. *Weinb. u. Keller*, 1960, **7**, 313, 361. (26) E.C. Hill et F.W. Wenzel. *Food. Techn.* 1957, **11**, 240. (27) W. Buchi et Ullmann. *Schweiz. Zeits. Obst. Weinbau*, 1958, **67**, 459. (28) E. Kielhöfer et G. Würdig. *Weinwiss*, 1960, **15**, 135 ; *Weinb. u. Keller*, 1959, **6**, 364. (29) M. Ingram et K. Vas. *J. Sci. Food. agric.*, 1950, **1**, 21 ; 1951, **2**, 63. (30) L.F. Burrough et G.C. Waiting. *Rep. Agr. Hort. Res. Stat. Long Ashton*, 1960, 144.

(31) G.C. Whiting et R. Coggins. *J. Sci. Food agric.* 1960, **12**, 705. (32) R.G. et P, 11, 621. (33) R.G. et P, 11, 623. (34) R.G. et P, 11, 633, 637. (35) W. Diemair, J. Koch et D. Hess. *Zeits. Lebens. Unters Forsch.* 1960, 113, 381. (36) L. Deibner et G. Savin. *Ind. alim. agric.*, 1962, **79**, 1057. (37) J. Ribéreau-Gayon. *Contribution à l'étude des oxydations et réductions dans les vins.* Delmas, Bordeaux, 1933, p. 97.

Résumé

L'acide sulfureux existe dans les vins sous de nombreuses formes très différentes au point de vue de leurs effets. Les trois actions suivantes de l'acide sulfureux y jouent un rôle.

1. L'effet antiseptique appartient à l'acide sulfureux libre, dans la mesure où celui-ci se trouve à l'état de SO_3H_2 actif, c'est-à-dire indissocié. Cet effet est très sélectif. Il est plus faible vis-à-vis des Saccharomyces que vis-à-vis des bactéries et des autres espèces de levures. Pour cette raison il n'est pas très approprié à la stabilisation des vins sucrés, mais il est par contre très précieux pour réaliser une fermentation pure. Dans ce cas une addition de 50 à 100 mg par l au moût ou à la vendange est, en général, suffisante.

2. La mission la plus importante de l'acide sulfureux dans le vin, pour laquelle aucune autre substance ne peut le remplacer, est la combinaison avec divers constituants du vin et leur neutralisation, avant tout avec l'acétaldéhyde issue de la fermentation. L'addition d'acide sulfureux après la fermentation doit donc être assez importante pour que l'acétaldéhyde libre, qui agit de façon très défavorable sur le goût du vin blanc, soit complètement combinée et que par conséquent de l'acide sulfureux soit présent à l'état libre. Cette forme combinée est très stable ce qui a une grande importance au point de vue hygiénique. Parmi les autres formes de l'acide sulfureux combiné, la combinaison au glucose existe en quantité si faible qu'elle ne joue pratiquement aucun rôle. Réellement plus grande est la quantité qui est combinée aux autres constituants, presque sans exception encore inconnus, que nous avons désignée comme acide sulfureux résiduel (« Rest-SO_2 »). Cela se rapporte particulièrement aux vins provenant de raisins pourris, qui nécessitent aussi un sulfitage plus fort et, à cause de cela, sont réputés consommer beaucoup d'acide sulfureux (« Schwefelfresser »). Comme l'acide sulfureux résiduel se trouve en équilibre avec l'acide sulfureux libre présent, il en fournit après coup toujours de nouvelles quantités. Tant que dure cette libération il ne peut y avoir d'acétaldéhyde libre dans le vin, ce qui est précieux pour une longue conservation en bouteilles.

3. Pour assurer durablement l'effet de protection de l'acide sulfureux contre l'oxydation enzymatique, c'est-à-dire contre le rapide brunissement du moût et du vin jeune par aération, 50 à 100 mg par l suffisent, soit les quantités que, le plus souvent, on ajoute avant fermentation. Par contre l'acide sulfureux ne peut protéger que faiblement contre les lents processus d'oxydation non enzymatique, par aération au cours de la conservation du vin.

STATE AND ACTION OF SULFUR DIOXIDE IN WINE RULES GOVERNING ITS USE

E. KIELHÖFER

Summary

Sulfur dioxide is found in wine in numerous forms, all very different from the point of view of their effects. The three following actions of sulfur dioxide are of importance.

1. The antiseptic effect characterizes free sulfur dioxide. It is in a state of active H_2SO_3 that is to say undissociated. This effect is very selective. It is weaker in the presence of Saccharomyces than with bacteria or the other species of yeasts. For this reason, it is not very appropriate to the stabilization of sweet wines, but on the other hand, it proves to be most valuable in the carrying out of a pure fermentation. Consequently, 50 to 100 p.p.m. of sulfur dioxide added to the must or to the crop of grapes is, as a rule, sufficient.

2. The most important task of sulfur dioxide in wine, for which it can be replaced by no other substance, turns out to be its combination with some varied constituent present in wine and their neutralization. Its combination with acetaldehyde of fermentation is most important. The addition of sulfur dioxide after fermentation must, therefore, be in large enough amounts in order that the free acetaldehyde, acting in a very unfavourable way on the taste of white wine, may be completely combined and in order that, as a result, some sulfur dioxide may be found present in a free state. This combined is very stable, which has a great importance from an hygienic point of view. the Among other forms of combined sulfur dioxide, the combination with glucose exists in such a small quantity that its action is practically non-existent. Far more important is the quantity combined with the other constituents, practically all these still being unknown, and which has been described as residual sulfur dioxide (« Rest-SO_2 »). This especially refers to wines resulting from rotten grapes which also require to be more strongly treated with a sulfite and because of this, are thought to use up much sulfur dioxide (« Schwefelfresser »). As residual sulfur dioxide remains in equilibrium with the free sulfur dioxide that is present, it always yields, after, new quantities of the latter. While this liberation takes place, there can be no free acetaldehyde in the wine in bottles.

3. To prevent lastingly the protective effect of sulfur dioxide against enzymatic oxidation, that is to say against the rapid darkening of the must and young wine through exposure to air, 50 to 100 p.p.m. suffices, that is to say the quantities which are generally added before fermentation. On the other hand, it can only afford slight protection against the slow processes of non-enzymatic oxidation through exposure to air in the course of the storage of wine.

ZUSTAND UND WIRKUNG DER SCHWEFLIGEN SÄURE IN WEIN HINWEISE FOR ANWENDUNG

E. KIELHÖFER

ZUSAMMENFASSUNG

Die SO_2 ist im Wein in zahlreichen in ihren Wirkungen sehr verschiedenen Formen enthalten. Es spielen dabei folgende 3 Wirkungen der SO_2 eine Rolle :

1. Die antiseptische Wirkung. Diese beruht auf der freien SO_2, soweit dieselbe als aktive d.h. undissoziierte H_2SO_3 vorliegt. Diese Wirkung is sehr selektiv. Sie ist viel geringer gegenüber den echten Hefen als gegenüber Bakterien und sonstigen Hefen. Zur Stabilisierung des Weines mit unvergorenem Zucker ist sie deshalb nicht geeignet, dagegen sehr wertvoll um eine reine Gärung zu bewirken. Dazu ist ein Zusatz von 50-100 mg/l zum Most oder zur Maische im allgemeinen ausreichend.

2. Die wichtigste Aufgabe der SO_2 im Wein, in der sie von keiner anderen Substanz ersetzt werden kann, ist die Bindung und Neutralisierung verschiedener, Weinbestandteile, vor allem des bei der Gärung entstehenden Azetaldehyds. Der SO_2-Zusatz nach der Gärung muss deshalb so gross sein, dass der freie Azetaldehyd, der im Weisswein geschmacklich sehr nachteilig wirkt, vollständig gebunden wird und darüber hinaus noch freie SO_2 vorhanden ist. Diese Form der SO_2 ist sehr stabil, was für die hygienische Beurteilung der SO_2 im Wein von grosser Bedeutung ist. Von den anderen Formen der gebundenen SO_2 im Wein ist die Glucose-SO_2 in so geringer Mengen vorhanden, dass sie praktisch keine Rolle spielt. Wesentlich grösser kann die Menge der an andere fast durchweg noch unbekannte Weinbestandteile gebundene SO_2 sein, die von uns als Rest-SO_2 bezeichnet wird. Dies trifft besonders bei Weinen aus faulem Lesegut zu, die infolgedessen auch einen grösseren SO_2-Zusatz erfordern und deshalb auch als « Schwefelfresser » bezeichnet werden. Da die Rest-SO_2 im Gleichgewicht zu der vorhandenen freien SO_2 steht, wird aus ihr diese letztere immer wieder nachgeliefert. So lange dies der Fall ist, kann daher kein freier Azetaldehyd im Wein entstehen. Dies ist für länger lagernde Flaschenweine wertvoll.

3. Die Schutzwirkung der SO_2 gegenüber der enzymatischen Oxydation, d.h. gegenüber der schnellen Verfärbung des Mostes und Jungweines beim Luftzutritt ist gross. 50-100 mg/l genügen in der Regel zur dauernden Ausschaltung derselben, also meistens schon die Menge, die man vor der Gärung zusetzt. Demgegenüber vermag die SO_2 gegen die langsamen nichtenzymatischen Oxydationsvorgänge, beim Luftzutritt während der Lagerung des Weines nur wenig zu schützen.

STATO ED AZIONE DELL'ACIDO SOLFOROSO NEI VINI REGOLE DEL SUO IMPIEGO

E. KIELHÖFER

RIASSUNTO

L'acido solforoso si trova nel vino sotto numerose forme molto differenti dal punto di vista dei loro effetti. Le tre seguènti azioni dell'acido solforoso esercitano un ruolo.

1. L'effetto antisettico appartiene all'acido solforoso libero, nella misura nella quale questo si trova allo stato di H_2SO_3 attivo, cioè indissociato. Questo effetto è particolarmente selettivo. La sua azione è infatti meno intensa nei confronti dei Saccharomyces che dei batteri e delle altre specie di lieviti. Per questa ragione l'acido solforoso non è particolarmente adatto alla stabilizzazione dei vini dolci, ma in compenso è particolarmente prezioso per realizzare una fermentazione pura. In questo caso, un' aggiunta al mosto o all'uva di 50 à 100 mg per litro è, in generale, sufficiente.

2. Il ruolo più importante dell'acido solforoso, nel quale nessuna altra sostanza puó sostituirlo, è la sua combinazione con diversi costituenti del vino e la loro neutralizzazione ; ed in primo luogo la sua combinazione con l'acetaldeide formatasi durante la fermentazione. L'aggiunta di acido

sofforoso, dopo la fermentazione, deve dunque essere di tale entità da determinare la completa combinazione dell'acetaldeide libera, che agisce assai sfavorevolmente nel gusto del vino bianco, lasciando nel contempo ancore anidride solforosa allo stato libero. Questa forma combinata dell'acido solforoso è molto stabile : fatto molto importante dal punto di vista igienico. Tra le altre forme dell'acido solforoso combinato, quella legata al glucosio è in quantità cosi esigua, che non guoca praticamente alcun ruolo. Di gran lunga piu importante è la quantita combinata agli altri costituenti, quasi tutti encore sconosciuti, che noi, abbiamo designato col nome di acido solforoso residua « Rest-SO_2 ». Ció si verifica principalmente nel caso di vini provenienti da uve ammuffite i quali necessitano di una più forte solforazione e, per consequenza hanno la reputazione di combinare una maggiore quantità d'acido solforoso (« Schwelfelfresser »). Siccome l'acido solforoso residuo si trova in equilibrio con l'acido solforoso libero presente, a misura che questo scompare, il residuo ne libera nuove quantità. Fin tanto che ció si verifica, non ci puó essere nel vino dell'acetaldeide allo stato libero ; fatto molto importante per una lunga conservazione in bottiglia.

3. L'effetto di protezione dell'acido solforoso contro l'ossidazione enzimatica, cio è contro il rapido imbrunimento del mosto e del vino nuovo per aerazione, in linea generale è durevolmente assicurato da dosi di 50 à 100 mg per litro di acido solforoso, che sareberro poi le quantità che, generalmente si aggiungono prima della fermentazione. Per contro effimera è la protezione che l'acido solforoso assicura contro i lenti processi di ossidazione non enzimatica, per aerazione durante la conservazione del vino.

ESTADO Y ACCION DEL ACIDO SULFUROSO EN LOS VINOS REGLAS PARA SU USO

E. KIELHÖFER

RESUMEN

El ácido sulfuroso se encuentra en los vinos en varias formas muy diferentes, desde el punto de vista de sus efectos. Las tres propiedades citadas a continuación, se manifiestan en los vinos.

1. El efecto antiséptico pertenece al ácido sulfuroso libre, en cuanto se encuentre al estado de H_2SO_3 activo, es decir, no disociado. Este efecto es muy selectivo. Es mas débil frente a los Saccharomyces que frente a las bacterias y las otras especies de levaduras. Por esta razón, no es muy apropiado para la estabilización de los vinos dulces, pero en cambio es muy útil para realizar una fermentación pura. En este caso, una adición de 50 à 100 mg por litro al mosto o a la vendimia, es en general suficiente.

2. La misión más importante del ácido sulfuroso en el vino, para la cual ninguna otra substancia lo puede substituir, es la combinación con diversos constituyentes del vino y su neutralización, primeramente con el acetaldehido que proviene de la fermentación. La adición de ácido sulfuroso después de la fermentación debe ser por lo tanto, bastante importante, para que el acetaldehido libre, que actúa de forma muy desfavorable en el sabor del vino blanco, sea completamente combinado, y que en consecuencia, el ácido sulfuro esté presente al estado libre. Esta forma combinada es muy estable, lo que es muy importante desde el punto de vista higiénico. Entre las otras formas del ácido sulfuroso combinado, la combinacion con la glucosa existe en cantidad tan pequeña, que prácticamente no desempeña ningún panel.

En realidad, la cantidad que se encuentra combinada con los otros constituyentes, casi desconocidos en su totalidad, es mayor, y la hemos designado con el nombre de acido sulfuroso residual (« Rest-SO_2 »). Esto se refiere especialmente a los vinos que provienen de uvas podridas, que requieren una dosis de ácido sulfuroso mayor, y a causa de esto se dice que consumen mucho ácido sulfuroso (« Schwefelfresser »).

Como el ácido sulfuroso residual se encuentra en equilibrio con el que existe libre, proporciona siempre posteriormente nuevas cantidades. Mientras que dura esta liberación, no puede existir acetaldehido libre en el vino, lo que es muy útil para una larga conservación en botella.

3. Para obtener de un modo permanente el efecto de protección del ácido sulfuroso contra la oxidacion enzimática, es decir contra el rápido obscurecimiento del mosto y del vino nuevo por aeración, bastan en general de 50 à 100 mg por litro, que son las dosis que más frecuentemente se aplican antes de la fermentación.

Por el contrario, el ácido sulfuroso solo puede dar una protección débil contra los procesos lentos de oxidación no enzimática por aeración, durante la conservación del vino.

INTERVENTION DE J. ARES-PONS

Laboratoire de Fermentations et Œnologie,
Faculté de Chimie, Montevideo (Uruguay)
(Directeur C.R. CANO-MAROTTA)

Contribution au dosage des différentes fractions de l'acide sulfureux dans les moûts et les vins

DOSAGE DE L'ACIDE SULFUREUX EN PRÉSENCE D'ÉTHANAL ET DE SUCRES

Nous avons présenté récemment un travail (1) concernant le dosage de l'acide sulfureux en présence d'éthanal et de sucres. Cette technique est la suivante :

1° *Séparation de l'acide sulfureux.* — L'échantillon de 5 ml, en milieu oxalique (pH environ 1,5) est soumis pendant 5 minutes à ébullition sous reflux dans un courant de gaz inerte ou d'air dans l'appareil représenté par la figure.

L'acide sulfureux est recueilli dans une solution alcaline oxalatée, contenue dans un ballon jaugé de 25 ml. 5 minutes sont suffisantes pour obtenir le dégagement quantitatif de l'acide sulfureux.

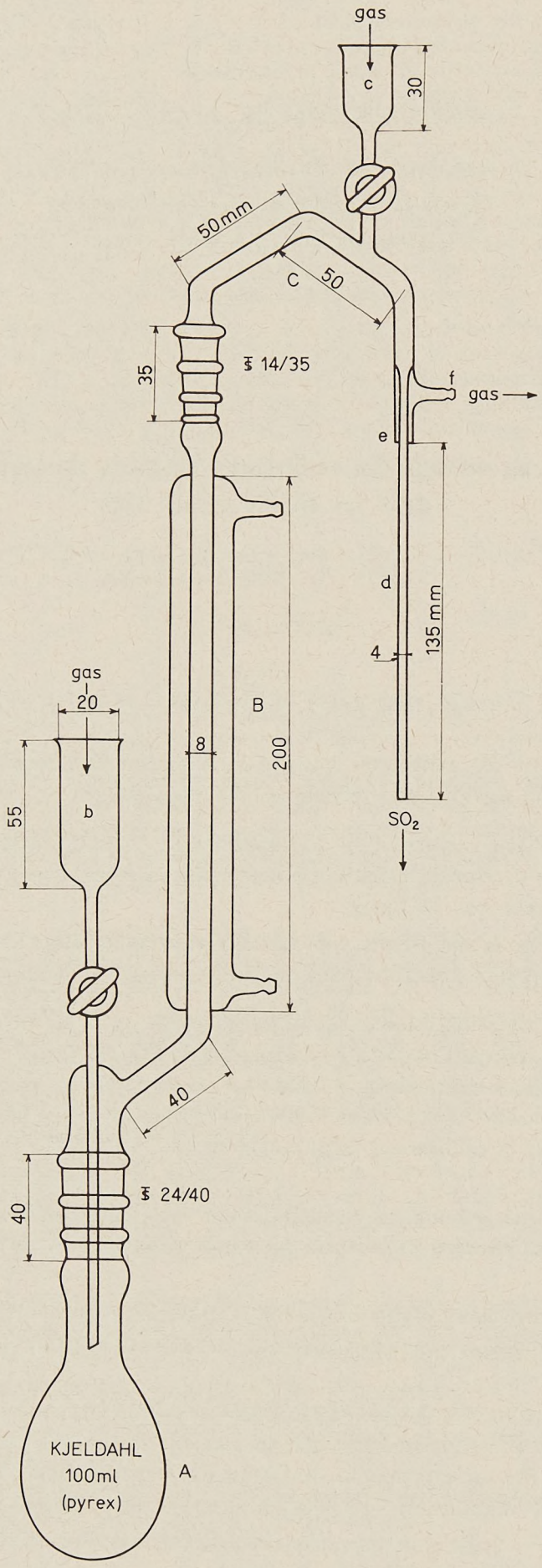
2° *Titrage.* — On retire exactement 20 ml du ballon et les verse sur du periodate de sodium en milieu alcalin, pour obtenir l'oxydation quantitative du $SO_3^=$ en $SO_4^=$ ($IO^4 \rightarrow IO^3$) ; ainsi n'ayant pas recours aux techniques iodométriques courantes pour oxyder la fraction de l'acide sulfureux combiné à l'éthanal, on évite l'oxydation de l'acide sulfureux par l'iode à un pH élevé. Cette réaction n'est jamais quantitative et soulève des difficultés pratiques (1). On tire en retour le periodate qui reste.

L'application de cette technique aux moûts et aux vins permet d'obtenir des résultats reproductibles ; nous n'avons relevé aucune autre substance réductrice du periodate dans les produits sans acide sulfureux.

En ce moment de nouvelles expériences sont en cours, dans lesquelles nous recevons directement dans la solution de periodate, ce qui a l'avantage de simplifier l'opération, tout en évitant des pertes d'acide sulfureux.

Les résultats sont dans bien des cas sensiblement inférieurs à ceux donnés par la technique de MONIER et WILLIAMS, ce qui semblerait indiquer par une voie directe, la présence d'autres substances, en plus de l'éthanal et des sucres, capables de retenir des quantités appréciables d'acide sulfureux, ainsi que KIELHÖFER et WÜRDIG (2) l'ont démontré d'une façon indirecte.

Nous avons appelé « acide sulfureux primaire » la fraction d'acide sulfureux libérée pendant le traitement en milieu oxalique décrit plus haut.


gas
c
30
50mm
C
50
35
14/35
f
gas
e
d
4
135 mm
B
200
gas
20
8
55
b
SO_2
40
40
24/40
KJELDAHL
100ml
(pyrex)
A

Dosage de l'acide sulfureux combiné a des substances inconnues

Il n'est pas nécessaire d'insister sur l'importance des travaux de Kielhöfer et Würdig concernant la fraction d'acide sulfureux qu'ils appellent « Rest-SO_2 » (acide sulfureux résiduel). Cette fraction, en plus de sa valeur œnologique, constitue une source d'acide sulfureux libre ; la présence d'un acide sulfureux résiduel élevé peut justifier, dans certains cas, les taux anormalement élevés d'acide sulfureux total auxquels doivent être portés certains vins pour obtenir un niveau utile d'acide sulfureux.

Le procédé de Kielhöfer et Würdig pour le dosage de l'acide sulfureux résiduel est indirect, se calculant par différence :

$$SO_2 \text{ résiduel} = SO_2 \text{ total} - (SO_2 \text{ libre} + SO_2\text{-éthanal} + SO_2\text{-glucose})$$

La mise au point d'une technique directe pour déterminer cette somme aidera à résoudre le dosage expérimental de l'acide sulfureux résiduel. Nous pensons que la technique décrite plus haut peut satisfaire ces exigences. Il serait désirable cependant de trouver un procédé permettant de déterminer d'une façon directe et indépendante la fraction acide sulfureux résiduel.

C'est sur ce point que nous avons dirigé nos recherches. Dans la deuxième partie de notre travail, nous exposons un essai pour établir les conditions expérimentales facilitant la libération complète de l'acide sulfureux qui n'est pas dégagé au cours de la digestion oxalique. D'après cette technique, l'échantillon ayant été traité à l'acide oxalique, est soumis à une digestion intense en milieu fortement acide. Après les 5 minutes d'ébullition sous reflux en milieu oxalique, on remplace le ballon jaugé par un autre ; on ajoute au récipient de réaction 8 ml d'acide sulfurique au demi et l'on maintient le reflux encore pendant 30 minutes. Le titrage s'effectue de la même façon que dans le cas précédent. Nous avons appelé « acide sulfureux secondaire » la fraction libérée pendant le traitement en milieu acide minéral.

Discussion

Le procédé comprenant la digestion oxalique puis la digestion sulfurique a été appliqué à quelques vins et les résultats sont assez concordants avec ceux de Monier et Williams. Dans les vins, en général, pendant la digestion sulfurique on n'observe pas une quantité appréciable de substances réductrices ; avec les moûts, la digestion sulfurique donne des résultats peu reproductibles, on observe une pyrolyse importante des sucres et il est donc nécessaire de contrôler et d'ajuster le reflux et le chauffage, pour éviter l'entraînement d'autres substances réductrices.

Nous avons plusieurs solutions à l'essai. D'une part, atténuer l'intensité de la digestion en milieu acide minéral en diminuant la concentration de l'ion hydrogène et en augmentant la durée de l'opération ; d'autre part, la mise au point d'une méthode hydrovolumétrique pour le dosage direct de l'anion sulfurique formé. Nous évitons ainsi de déterminer le periodate en excès et n'avons plus le problème du passage possible d'autres réducteurs. Les résultats obtenus jusqu'ici sont encourageants.

L'état actuel de notre investigation peut se résumer de la façon suivante :

a) Il n'y a pas de doute que l'acide sulfureux primaire dosé par notre technique de digestion oxalique, comprend : SO_2 libre + SO_2-éthanal + SO_2-glucose, et probablement de petites fractions combinées à l'arabinose et l'acétoïne.

b) L'acide sulfureux secondaire contient la plus grande partie du SO_2 résiduel, défini par Kielhöfer et Würdig ; dans le cas des vins rouges, il est probable qu'il contient aussi l'acide sulfureux combiné à la matière colorante.

c) Nous n'avons pas la certitude absolue qu'une petite fraction d'acide sulfureux résiduel ne soit incluse elle aussi dans l'acide sulfureux primaire.

d) De toute façon, le procédé que nous proposons permet de reconnaître expérimentalement une fraction de l'acide sulfureux total, par son comportement physico-chimique particulier. Cette fraction doit agir considérablement sur les conditions d'équilibre final atteint par l'acide sulfureux qui est ajouté aux vins ; elle doit de même se faire sentir sur la vitesse avec laquelle se rétablit la concentration de l'acide sulfureux microbiologiquement actif, quand il y a des pertes d'acide sulfureux libre.

Ainsi nous considérons la mise au point d'une méthode correcte permettant les dosages exacts des différentes fractions d'acide sulfureux comme très importante.

Références bibliographiques

(1) J. Ares Pons, « 5e *Congrès Panaméricain de Pharmacie* et *Biochimie* » (Santiago du Chili, 1960).
(2) E. Kielhöfer et G. Würdig, *Weinberg und Keller*, 1960, 7, 313.

INTERVENTION DE J. BLOUIN

Station Agronomique et Œnologique de Bordeaux (France)

Constituants du vin combinant de l'acide sulfureux

Les nombreuses analyses que nous avons effectuées à la Station œnologique de Bordeaux, sur des vins blancs de la région, ont confirmé les travaux de KIELHÖFER et montré qu'une partie très importante de l'acide sulfureux des vins est combinée à des substances inconnues. Le taux d'acide sulfureux « résiduel », c'est-à-dire, selon KIELHÖFER, non combiné à l'éthanal et au glucose, oscille en effet dans les vins de Bordeaux de 40 à 280 mg par litre, soit de 40 à 80 % de l'acide sulfureux combiné total.

La libération de l'acide sulfureux par addition au vin de réactifs des fonctions carbonyles d'une part et l'étude du pouvoir de combinaison élevé des nombreuses substances aldéhydiques et cétoniques d'autre part, nous ont amené à caractériser et doser systématiquement dans les vins et les moûts divers corps capables de combiner de l'acide sulfureux, tels les acides galacturonique, glucuronique, pyruvique et α-cétoglutarique.

La chromatographie de partage sur papier des acides organiques du vin, préalablement isolés par résines échangeuses d'anions, permet de caractériser la présence constante d'acide galacturonique et d'acide glucuronique dans tous les vins blancs de Bordeaux. Cette technique semi-quantitative montre qu'il y a de 200 à 1 000 mg par litre d'acides uroniques totaux et approximativement la même quantité d'acide glucuronique que d'acide galacturonique. Sachant qu'un gramme d'acide glucuronique combine environ 10 mg d'acide sulfureux pour 100 mg d'acide sulfureux libre à pH 3,3 et un gramme d'acide galacturonique environ 25 mg dans les mêmes conditions, il existe de 2 à 25 mg d'acide sulfureux combiné aux acides uroniques dans les vins, selon le pourcentage relatif de ces deux acides et la concentration en acide sulfureux libre.

D'un autre côté, la chromatographie sur papier des 2-4 dinitrophénylhydrazones des cétoacides du vin extraites par l'acétate d'éthyle, puis le carbonate de sodium, permet de caractériser, entre autres corps, la présence constante d'acide pyruvique et d'acide α-cétoglutarique dans tous les moûts et vins blancs de Bordeaux que nous avons analysés, alors que cette présence n'y avait jamais été signalée. Nous avons en outre dosé ces deux derniers corps par des méthodes enzymatiques, dont c'est la première utilisation en analyse des vins, en utilisant leur réduction par la diphosphopyridine nucléotide réduite (DPN-H) dont on mesure l'excès par photométrie dans l'ultra-violet. Nous avons ainsi trouvé de 10 à 100 mg d'acide pyruvique par litre et de 15 à 110 mg d'acide α-cétoglutarique. Les facteurs de ces variations, maturation du raisin, fermentation du moût et vieillissement du vin sont en cours d'étude. Sachant, d'une part, que 100 mg d'acide pyruvique combinent, à pH 3,3, 60 mg d'acide sulfureux pour 100 mg d'acide sulfureux libre et 50 mg pour 50 mg par litre d'acide

sulfureux libre et, d'autre part, que 100 mg d'acide α-cétoglutarique combinent dans les mêmes conditions respectivement 35 et 25 mg d'acide sulfureux, nous voyons qu'une partie importante de l'acide sulfureux combiné résiduel est ainsi expliquée.

En réalisant les bilans d'acide sulfureux de plusieurs vins blancs secs et moelleux en tenant compte des résultats précédents, nous avons pu expliquer de 20 à 80 mg d'acide sulfureux combiné résiduel. Le taux d'acide sulfureux résiduel ainsi calculé n'est plus que de 17 à 51 % de l'acide sulfureux combiné total au lieu de 45 à 77 %, sa valeur absolue n'excédant pas 40 mg par litre dans les vins blancs secs.

En résumé, la mise en évidence de la présence constante des acides glucuronique, galacturonique, pyruvique et α-cétoglutarique à des doses totales atteignant 6 ou 7 méq par litre contribue, outre son intérêt documentaire, à combler le déficit d'anions souvent constaté dans les bilans acidimétriques et surtout contribue à expliquer une fraction importante de l'acide sulfureux combiné à des substances jusqu'alors inconnues, et à éclaircir un peu un des plus importants problèmes œnologiques concernant les vins blancs.

EMPLOI DE L'ACIDE SORBIQUE DANS LA CONSERVATION DES VINS

E. PEYNAUD

Station Agronomique et Œnologique de Bordeaux (France)

L'acide sorbique a été introduit ces dernières années dans la pratique de la conservation de certains produits alimentaires, en mettant surtout à profit ses propriétés antifongiques. C'est ainsi qu'il a été autorisé pour la conservation des vins en France depuis le 15 octobre 1959, tolérance qui, à notre connaissance, n'a pas été encore suivie par d'autres pays vinicoles. Rappelons que l'autorisation d'emploi a été assortie d'une réduction de la dose maximale d'acide sulfureux total, fixée à 250 mg par la circulaire de 1959, portée exceptionnellement à 350 mg pour les vins de ce millésime, et à 450 mg pour les vins de 1960.

De nombreux essais de laboratoire ont été effectués dans tous les pays producteurs. On s'accorde généralement sur la bonne activité antilevure de l'acide sorbique et sur son efficacité dans la conservation des vins sucrés, lorsque certaines conditions sont respectées. Après ces études et ces quatre années d'application pratique, il est souhaitable d'exposer l'état de nos connaissances sur ce sujet et de dégager les points inconnus ou insuffisamment étudiés, qui demandent encore des recherches.

Notre intention n'est pas de reprendre ici en détail tout l'ensemble du problème ; nous en avons déjà fait des exposés en 1960 (1) et en 1961 (2) et nous renvoyons notamment à cette dernière référence qui concerne notre *Traité d'Œnologie*.

Nous envisagerons les dernières données sur le spectre d'activité antimicrobienne de l'acide sorbique, sur les conditions et sur le mécanisme de son action, enfin sur l'important problème de sa stabilité dans le vin. Nous essaierons d'établir un bilan objectif, et nous verrons qu'il subsiste encore des inconnues, à la fois sur le plan théorique et sur le plan pratique de l'utilisation. Nous manquons ici, comme pour beaucoup de procédés nouveaux de traitement, d'une étude systématique vraiment complète. A cause des conditions actuelles de travail, beaucoup de recherches œnologiques sont seulement partielles et se limitent au côté technologique immédiat, alors que ces problèmes nécessiteraient un travail d'équipe dans des centres de recherche importants et bien organisés, en liaison étroite avec la grande pratique.

Spectre d'activité antimicrobienne en fonction du pH

Propriétés antilevures de l'acide sorbique. — L'action antifongique de l'acide sorbique a été mise en évidence dès 1954-1955 par plusieurs auteurs (3 à 8). Les premiers essais d'application aux vins datent de 1956 et 1957. Dès cette époque, nous avons conduit à la Station de Bordeaux un grand nombre d'essais pour préciser l'activité antifongique de l'acide sorbique vis-à-vis des diverses espèces de levures de vin, dans des conditions variées. Nous indiquons succinctement, à titre d'exemple, les résultats de quelques essais sur jus de raisin et sur vins sucrés.

Le moût servant de milieu de culture présente 200 g de sucre par litre et un pH de 3,20. Des flacons de jus stérile sont ensemencés avec des souches des principales espèces de levures rencontrées dans les vins. Pour chaque levure, on essaie des doses croissantes d'acide sorbique allant de 0,2 à 5 g par litre. L'ensemencement suit immédiatement l'addition du produit et son mélange. Les fermentations sont conduites à 25 °C, les flacons étant munis d'un dispositif réalisant des conditions d'anaérobiose ; elles sont suivies par pesées successives des flacons ; les pertes de poids correspondent au gaz carbonique dégagé.

Voici ainsi établies les doses nécessaires pour inhiber la fermentation durant un mois (doses fongistatiques) :

Kloeckera apiculata	0,2 g par litre
Hansenula anomala	0,2 —
Saccharomyces ellipsoideus	0,5 —
Saccharomyces oviformis	0,5 —
Saccharomyces rosei	0,5 —
Saccharomycodes ludwigii	0,5 —
Torulopsis bacillaris	0,5 —
Pichia fermentans	0,5 —
Brettanomyces schanderlii	0,5 —
Saccharomyces acidifaciens	1,0 —
Saccharomyces heterogenicus	1,0 —

Ces essais confirment la grande résistance aux inhibiteurs de *Saccharomyces acidifaciens*, levure typique de refermentation, résistance qui a été observée également pour d'autres produits antifongiques : acide sulfureux, actidione, mycostatine, pyrocarbonate d'éthyle.

Voici d'autres observations faites par Tarantola (9) sur les doses nécessaires pour empêcher la fermentation d'un moût de raisin ensemencé avec différentes levures :

Kloeckera apiculata	0,10 g par litre
Saccharomyces uvarum, souche M6	0,15 —
Saccharomyces uvarum, souche B145	0,25 —
Saccharomyces ellipsoideus	0,30 —
Saccharomyces bayanus	0,30 —
Saccharomyces chevalieri	0,30 —

Nous avons étudié, d'autre part, l'action fongicide de l'acide sorbique, définie par la dose permettant l'arrêt de la fermentation de différents jus de raisin (mutage). Les additions de 0,5 à 5 g par litre sont faites au moment où il reste encore 40 à 50 g

de sucre non fermenté. Dans ces conditions il a fallu 5 g par litre pour arrêter complètement la fermentation. Des doses inférieures provoquent seulement un ralentissement et un arrêt avant la fin ; même avec 0,5 g la fermentation n'est pas toujours complète et laisse quelques grammes de sucre. Les propriétés fongicides de l'acide sorbique sont donc peu marquées.

Enfin nous avons recherché les doses inhibitrices pour des vins diversement sucrés de 10° d'alcool, désulfités par la quantité nécessaire d'acétaldéhyde ; ils sont additionnés de doses croissantes d'acide sorbique : 100, 150, 200, 250 et 300 mg par litre et ensemencés avec différentes levures de refermentation. Les doses-seuil nécessaires pour interdire la refermentation des vins pendant au moins trente jours sont de 100 à 125 mg pour *Sacch. ellipsoideus* et *Saccharomycodes ludwigii* et de 150 à 200 mg pour *Sacch. acidifaciens* et *Sacch. oviformis*. Des doses semblables ont été indiquées par d'autres auteurs : SALLER et KOLEWA (10), CHENARD (11), SUDARIO (12), TARANTOLA (9), KIELHÖFER (13), AZVANY (14), OUGH et INGRAHAM (15), également en Tchécoslovaquie (16). Pour SCHANDERL (17) et AUERBACH (18), des doses supérieures sont nécessaires en l'absence d'acide sulfureux pour une conservation de plusieurs mois. Ces doses d'utilisation n'ont d'ailleurs de sens que si on définit également le pH des vins (voir plus loin).

Dans d'autres essais, nous avons déterminé les doses d'acide sorbique actives en fonction du degré alcoolique et de l'importance de l'ensemencement. En utilisant l'acide sorbique à des doses de 25 à 200 mg par litre, de 25 en 25 mg, on recherche la dose-seuil d'inhibition dans des vins dont les degrés avoisinent 10, 11, 12, 13 et 14°. Les vins sont désulfités et conservés en flacons incomplètement pleins. Dans chaque série, on réalise par ensemencement avec *Sacch. oviformis* des populations de 5 000, 50 000 et 500 000 levures par millilitre. Le pouvoir antilevure de l'acide sorbique varie avec le degré alcoolique et la population des levures (tableau 1). La présence de 50 mg d'acide sulfureux libre au départ de l'essai renforce beaucoup l'inhibition.

TABLEAU 1

Doses d'acide sorbique nécessaires à la conservation des vins sucrés

Essais de laboratoire avec *Sacch. oviformis*, teneurs en mg par l

Degré alcoolique	Importance de l'ensemencement		
	5 000 levures par ml	50 000 levures par ml	500 000 levures par ml
10°	150	175	200
11°	125	150	200
12°	100	150	150
13°	75	100	150
14°	50	75	125

L'utilisation dans la pratique peut s'inspirer de ce tableau, mais à cause des contaminations possibles et parfois des fermentations localisées dans les lies où la densité de la population des levures est considérable, on peut avoir intérêt à utiliser

l'acide sorbique à concentrations plus fortes, comme on le fait d'ailleurs pour l'acide sulfureux, dont la dose de conservation en fût est toujours beaucoup plus élevée que la dose antiseptique théorique. On peut également rencontrer des levures plus résistantes ; précisément LAMBION donne dans son rapport à ce Symposium les caractéristiques de quelques souches de *Saccharomyces* résistantes à l'acide sorbique.

Enfin on doit préciser que l'influence considérable de l'acidité, qui est analysée plus loin, rend les indications de ce tableau très approximatives.

Dans les vins, l'acide sorbique exerce à la longue une certaine action fongicide, analogue à celle de l'acide sulfureux. Un vin blanc sec non sulfité comptant 30 000 levures vivantes par millilitre, dénombrées sur milieu solide, n'en présente plus que quelques unités par millilitre un mois après son traitement par 200 mg par litre d'acide sulfureux (80 mg d'acide sulfureux libre restant) ou par 200 mg d'acide sorbique seul.

L'acide sorbique agit aussi contre les levures mycodermiques *Candida mycoderma*, capables de se développer à la surface du vin en formant un voile ou « fleur ». Des essais réalisés avec des vins rouges de 10° conservés en bouteilles pleines debout ont montré que 15 g d'acide sorbique par hectolitre pouvaient assurer une bonne conservation pendant au moins trois semaines. 20 g par hectolitre sont nécessaires, mais peuvent ne pas être suffisants, pour des degrés plus faibles ou des périodes plus longues, ou des vins moins bien filtrés.

Propriétés antibactériennes de l'acide sorbique. — Les propriétés antibactériennes de l'acide sorbique sont beaucoup moins marquées que ses propriétés antifongiques et, aux doses actives sur les levures, l'acide sorbique n'exerce pratiquement aucune action contre les bactéries acétiques ou lactiques. Il faudrait utiliser des doses de 0,6 à 1 g par litre pour observer une certaine action, d'ailleurs insuffisante. L'acide sorbique évite donc les refermentations dans les vins, mais n'empêche ni la piqûre acétique, ni la piqûre lactique, ni l'attaque bactérienne de l'acide tartrique ou du glycérol. Nous avons observé que jusqu'à 0,5 g par litre il ne gêne pas non plus la fermentation malolactique.

D'après EMARD et VAUGHN (19), la présence de 1,2 g d'acide sorbique par litre dans un milieu nutritif de pH 5,0 à 5,5 permet encore une bonne croissance des bactéries lactiques, tandis que sont totalement inhibées dans ces conditions, en plus des levures et des moisissures, la plupart des bactéries banales ou sporulées, y compris les *Acetobacter*. WINKELMANN (20) montre de même que les *Lactobacillus* et les *Streptococcus* résistent parfaitement, à pH 6,2, à 1 g d'acide sorbique par litre et il utilise les propriétés sélectives de l'acide sorbique pour réaliser des cultures pures de bactéries lactiques. DOLL (21) confirme le peu d'activité de l'acide sorbique sur les bactéries pathogènes.

L'acide sorbique exerce donc un effet fortement sélectif sur les microorganismes du vin et s'oppose au développement des levures sans gêner celui des bactéries. Il agit donc d'une manière exactement inverse de celle de l'acide sulfureux, qui au contraire favorise les levures aux dépens des bactéries. En conséquence, l'acide sorbique ne doit jamais être employé seul, mais toujours associé à un produit antibactérien. La méconnaissance de cette règle peut conduire à des échecs dans l'application de l'acide sorbique au vin. On ne peut pas dire que l'acide sorbique favorise la croissance des bactéries et même, à partir de 500 mg par litre, les bactéries acétiques sont gênées par lui, mais dans la compétition microbienne entre levures et bactéries il est certain qu'il laisse le champ libre aux secondes. Lorsque l'acide sorbique intervient dans les vins qui ont des germes de levures mycodermiques et de bactéries

acétiques, ou qui ont été ensemencés avec les deux microorganismes, on observe lorsque ces vins sont exposés à l'air que le développement de la fleur est empêché et que les bactéries acétiques se développent plus rapidement. L'acidité volatile formée augmente avec le taux d'acide sorbique. Dans ces conditions l'acide sorbique favorise donc indirectement la piqûre mais tout autre antifongique agirait de la même façon. Les levures de la fleur ne pouvant se développer laissent la place aux bactéries acétiques ; l'acide sorbique fausse en somme les phénomènes naturels d'antagonisme au profit des bactéries. Des vins laissés sans soins au contact prolongé de l'air s'altèrent toujours d'une manière ou d'une autre ; s'ils ne peuvent refermenter ou fleurir, ils se piquent de préférence ; en réalité, c'est l'absence de fermentation qui favorise la piqûre. De toute façon ces conditions ne doivent pas se présenter dans la pratique et ces faits ne suffisent pas pour affirmer que les vins traités à l'acide sorbique sont de conservation plus difficile. Ils prouvent simplement que les meilleures conditions de conservation ne sont pas réalisées.

Il n'en est pas moins exact que, comme l'a exprimé ROCQUES (22), l'acide sorbique ne présente une efficacité pratique suffisante qu'en association, d'une part avec une certaine proportion d'alcool et d'autre part avec une certaine dose d'acide sulfureux libre. L'acide sorbique est un adjuvant de l'acide sulfureux, il renforce son action ; mais ce n'est pas véritable produit de remplacement. Les recherches modernes montrent que dans les conditions actuelles aucun produit ne peut se substituer à l'acide sulfureux avec les mêmes bénéfices multiples. L'emploi de l'acide sorbique n'autorise donc pas à s'écarter des saines règles du travail des vins et il a précisément d'autant plus d'efficacité qu'elles sont mieux respectées. La plupart des échecs qu'on a reprochés à l'acide sorbique (manque d'efficacité et goûts étrangers) proviennent précisément de la méconnaissance ou de l'oubli de ces notions.

Influence du pH — Le pH des vins a une forte influence sur l'efficacité de l'acide sorbique, comme le montre le tableau 2 tiré des essais de BARRET et BIDAN (23). Plus le pH est bas, plus l'activité antilevure de l'acide sorbique est grande et par conséquent plus la dose utilisée peut être faible. Ce facteur a certainement une grande incidence dans le traitement des vins ; il n'en a pas toujours été suffisamment tenu compte ; il est même possible qu'au-dessus de pH 3,5, la dose maximale de 200 mg par litre ne soit pas suffisante.

TABLEAU 2

Efficacité antifongique de l'acide sorbique en fonction du pH

D'après BARRET et BIDAN (23). Essais de fermentation d'un vin sucré ensemencé à divers pH, pour diverses additions d'acide sorbique. Les valeurs indiquent le nombre de jours au bout desquels on a observé une fermentation.

Addition d'acide sorbique mg par l	pH 3,1	pH 3,5	pH 4,0	pH 5,0
Témoin	9	6	4	4
+ 50	10	8	7	7
+ 100	19	12	12	7
+ 150	Pas de fermentation	15	13	7
+ 200		17	17	9
+ 300	»	Pas de fermentation	Pas de fermentation	18

De nombreux auteurs (19, 21, 24, 25, 26) ont également étudié cette influence des conditions d'acidité et ont rattaché l'action inhibitrice de l'acide sorbique à l'acide indissocié. Comme pour beaucoup d'acides antiseptiques, en particulier comme pour l'acide sulfureux, ce n'est pas l'anion qui possède l'activité antiseptique, mais l'acide indissocié. Effectivement il existe dans les résultats de BELL et collaborateurs (26) un parallélisme remarquable entre les courbes de croissance de trois bactéries (*Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum* et *Pediococcus cerevisiae*) et la courbe représentant l'évolution de l'acide sorbique indissocié en fonction du pH.

Ces interprétations définissent une première règle à suivre dans l'application de l'acide sorbique. Mais elles ne traduisent pas cependant encore exactement les faits, lorsqu'on considère les levures tout au moins et la gamme de pH des vins. Nous donnons ci-dessous en effet les proportions d'acide sorbique indissocié calculées en fonction du pH, pour la gamme des valeurs de pH des vins (pK de l'acide sorbique = 4,76).

pH	% d'acide sorbique indissocié
2,90	99
3,00	98
3,10	98
3,20	97
3,30	96
3,40	95
3,50	94
3,60	93
3,70	92
3,80	90
4,00	83

Or on peut voir, d'après les résultats de BARRET et BIDAN (23), que l'activité de l'acide sorbique est diminuée sensiblement de moitié entre pH 3,1 et pH 3,5, alors que la teneur en acide actif indissocié passe seulement de 98 à 94 %. Le pH des vins ne devrait même pas avoir d'influence pratique, puisque de pH 2,90 à pH 3,80, qui peuvent être considérés comme les valeurs extrêmes rencontrées dans les vins, la proportion d'acide sorbique indissocié varie de 99 à 90, soit de 10 % seulement.

Du reste dans notre laboratoire Mme A.M. BOIDRON a étudié à l'appareil manométrique de Warburg l'influence du pH sur l'inhibition par l'acide sorbique de l'activité respiratoire et fermentaire des levures *Sacch. ellipsoideus*. Le tableau 3 résume les résultats obtenus. Diverses conclusions peuvent être tirées de ces mesures qui éclairent le rôle joué par le pH. D'abord en ce qui concerne les intensités de fermentation :

1) L'inhibition de la fermentation par l'acide sorbique reste partielle et est presque indépendante des quantités ajoutées, pourtant ici très élevées. Cette observation confirme que l'acide sorbique agit peu sur le métabolisme ; c'est un inhibiteur de la croissance.

2) L'intensité fermentaire du témoin est beaucoup plus faible à pH bas.

3) L'inhibition due à l'acide sorbique est pratiquement identique aux trois pH essayés ; les écarts relatifs sont de l'ordre des erreurs expérimentales.

Pour ce qui a trait aux intensités respiratoires :

1) Les intensités respiratoires sont les mêmes à pH 2,8 et 3,8 pour les témoins sans acide sorbique.

2) L'acide sorbique diminue la respiration de moitié à pH 2,8 ; il ne la modifie pratiquement pas à pH 3,8, dans les conditions de l'essai.

En somme on peut constater un certain accord entre les intensités fermentaires et les taux d'acide sorbique indissocié. Mais l'effet du pH sur l'inhibition de la respiration (tableau 3) et sur l'inhibition de la croissance des levures par l'acide sorbique (tableau 2) dépasse de beaucoup celui qui pourrait être expliqué en attribuant le pouvoir antifongique au seul acide indissocié. Les phénomènes de l'inhibition, du moins aux pH bas, obéissent à des lois complexes qui mettent certainement en œuvre des phénomènes de perméabilité des cellules dans lesquels intervient l'acidité réelle. D'ailleurs il a été déjà remarqué que la vitesse de pénétration des acides conservateurs dans les cellules de levures à différentes valeurs de pH est plus grande que celle qu'on pouvait attendre d'après les modifications de pH correspondantes (27).

Mode d'action de l'acide sorbique

S'il y a accord sur l'effet antifongique de l'acide sorbique, on est loin d'avoir élucidé son mode d'action sur les diverses fonctions et sur les systèmes enzymatiques de la cellule de levure, malgré quelques études pour en situer le niveau. Les travaux portent essentiellement sur les enzymes de la fermentation alcoolique ou du cycle carboxylique.

Melnick et collaborateurs (28) suggèrent que l'acide sorbique inhibe les différentes deshydrogénases. York et Vaughn (29) relient ses propriétés à l'inactivation de la fumarase. Récemment Whitaker (30) a démontré que l'inhibition de l'alcool-deshydrogénase était due au blocage des groupes sulfhydryles de l'enzyme ; toutes les enzymes possédant le groupe SH seraient de même bloquées de cette façon. On peut s'étonner alors de ce que tous les microorganismes ne soient pas inhibés identiquement par l'acide sorbique ; les auteurs essaient d'expliquer ces différences par les propriétés d'utilisation ou de neutralisation de l'acide sorbique que possèdent certains microorganismes.

Pour Azukas et collaborateurs (3), l'inhibition de la fermentation alcoolique par l'acide sorbique serait due à l'inhibition de l'énolase et la chaîne des réactions serait stoppée entre l'acide phospho-2-glycérique et l'acide phosphoénolpyruvique. Cependant l'énolase des *Lactobacillus* et des *Pediococcus* n'est pas inhibée in vitro par l'acide sorbique.

Notre expérimentation à l'appareil de Warburg montre que la fermentation est la fonction de la cellule la moins perturbée par l'acide sorbique (tableau 3). Cette inhibition n'est que très partielle et presque indépendante de la concentration du produit ; de toute façon elle est insuffisante pour expliquer ses propriétés antifongiques. En milieu acide, la respiration est un peu plus sensible à l'acide sorbique que la fermentation, mais des doses très élevées abaissent seulement l'intensité respiratoire de moitié. On a attribué l'effet dépressif sur l'absorption d'oxygène à l'inhibition de la formation d'acide citrique dans les cellules (32).

En réalité, l'acide sorbique est surtout fongistatique ; il agit sur la croissance et la multiplication et il faudrait rechercher s'il agit éventuellement comme antivitamine ou par intervention sur le métabolisme azoté par exemple. Il y a là un important champ d'études biochimiques. Des progrès dans la connaissance des mécanismes d'inhibition entraîneraient vraisemblablement des progrès dans les conditions de l'utilisation.

En combinaison avec d'autres produits de conservation, l'acide sorbique manifeste une légère tendance à un synergisme d'action comme ont pu le montrer REHM et STAHL (33).

TABLEAU 3

Modification des intensités respiratoire et fermentaire des levures par l'acide sorbique

Résultats exprimés en mm^3 de gaz par g de levure par heure

pH		Témoin	Acide sorbique en mg par l		
			500	1 000	1 500
			FERMENTATION		
2,8	$Q^N_{CO_2}$	81	65	63	66
	Perte d'activité		20 %	22 %	18 %
3,3	$Q^N_{CO_2}$	184	152	136	123
	Perte d'activité		17 %	26 %	33 %
3,8	$Q^N_{CO_2}$	202	155	153	139
	Perte d'activité		23 %	24 %	31 %
			RESPIRATION		
2,8	Q_{O_2}	37	16	17	18
	Perte d'activité		57 %	54 %	51 %
3,8	Q_{O_2}	38	38	38	34
	Perte d'activité		0	0	10 %

STABILITÉ DE L'ACIDE SORBIQUE

Les solutions fraîches d'acide sorbique n'ont pas d'odeur et ce produit n'influence pas l'arôme des vins. A la dose de 200 mg par litre, l'acide sorbique ne modifie pas, aussi peu que ce soit, les caractères gustatifs des vins bien conservés, même les plus fins, ni immédiatement après l'addition, ni après plusieurs années de vieillissement en bouteilles par exemple. Son influence sur le goût commence à être sensible pour certains vins à partir de 300 mg par litre, mais ce n'est que pour des doses supérieures, 400 à 500 mg, qu'elle est nette. Il n'augmente pas le goût acide et n'amaigrit pas les vins, puisqu'il est toujours ajouté sous forme de sels, mais il accentue les impressions d'astringence, d'amertume, d'âpreté qui sont perçues surtout dans l'arrière-goût.

On avait mis en garde dès l'origine (34) sur la possibilité de développement d'odeurs et de goûts étrangers et désagréables dans les vins traités à l'acide sorbique, particulièrement dans les vins rouges. On a même demandé pour cette raison de reconsidérer son autorisation. En réalité lorsque le produit est correctement utilisé,

l'expérience de la pratique généralisée depuis plusieurs années et portant sur l'utilisation de plusieurs dizaines de tonnes de produit montre que dans les conditions normales de conservation, il n'y a aucune modification de l'évolution du vin et du développement en bouteilles. Quoi qu'il en soit, ces observations posent le problème de la stabilité de l'acide sorbique dans les vins, stabilité des propriétés antilevures et stabilité chimique ; il faut avouer qu'il reste encore des inconnues à ce sujet.

Nous verrons d'abord ce qui est connu de la stabilité de l'acide sorbique vis-à-vis de l'oxydation, en solution concentrée et dans les produits alimentaires, et nous envisagerons les cas particuliers de sa dégradation microbienne.

L'acide sorbique est un acide gras non saturé, correspondant à l'acide saturé, l'acide caproïque.

Acide sorbique : $CH_3\,CH = CHCH = CHCOOH$
Acide caproïque : $CH_3\,CH_2\,CH_2\,CH_2\,CH_2\,COOH$

Les acides gras non saturés sont oxydables à l'air, avec formation de peroxydes. Cette oxydation aboutit à des aldéhydes, avec ou sans doubles liaisons, et explique les mauvais goûts que prennent en général les corps gras oxydés. Dans le cas de l'acide sorbique, il se forme de l'aldéhyde crotonique $CH_3CH = CH\,CHO$ et des composés carbonyliques non saturés de type $— CH = CO - \acute{C} = O$. L'oxydabilité de l'acide sorbique est du même ordre que celle de l'acide oléique ou de l'acide linoléique (28).

On remarque que les solutions aqueuses concentrées de sorbate jaunissent pendant leur conservation et prennent une odeur aldéhydique ; le produit solide lui-même se modifie à la longue au point de vue aspect et odeur, même s'il est conservé à l'abri de l'air et de la lumière. Ces observations témoignent bien d'une certaine instabilité chimique de l'acide sorbique (35). Ces modifications, notamment celles des solutions, ne s'accompagnent pas cependant d'une diminution de l'efficacité contre les levures. Nous avons vérifié que des solutions de sorbate de sodium ou de potassium à 10 ou 15 %, neutres ou légèrement alcalines, conservent intactes leurs propriétés antifongiques après trois mois de conservation. On a même noté une augmentation du pouvoir antibactérien, surtout dans les solutions exposées à la lumière (36).

Les solutions diluées d'acide sorbique, c'est-à-dire celles dont la teneur est de l'ordre de 0,3 à 3,0 g par litre paraissent nettement plus stables que les solutions mères concentrées. On n'est pas encore en mesure de donner les raisons de cette constatation. Alors que, nous l'avons vu, les solutions mères concentrées se transforment lentement, après quelques semaines ou quelques mois, en produits d'oxydation partiellement colorés ou en produits de polymérisation, l'acide sorbique plus fortement dilué est plus stable. D'après certains auteurs, si l'acide sorbique est ajouté au vin à une concentration de 0,2 à 0,3 g par litre, on n'a pas à craindre en pratique une rétrogradation à la suite d'oxydation ou transformation similaire. Cependant d'après d'autres chercheurs l'acide sorbique peut arriver à disparaître en solution diluée : la chromatographie sur papier montre qu'en sept à neuf mois 90 % de l'acide sorbique d'une solution aqueuse à 1,5 g par litre ont été transformés en dérivés carbonyliques (36).

La stabilité de l'acide sorbique dans le vin lui-même n'a pas encore été étudiée systématiquement. Nous pouvons simplement affirmer qu'il reste de l'acide sorbique trois ans après son addition dans un vin conservé en bouteilles, mais nous n'avons pas de documents quantitatifs pour des vins différents, dans des conditions variées de conservation. C'est une des premières lacunes à combler. Cette étude expliquerait sans doute la raison de l'apparition de mauvais goûts.

Nous avons eu l'occasion d'étudier quelques cas accidentels d'apparition d'une

odeur souvent très forte, rappelant assez celle du géranium. Dans tous les cas, les vins atteints étaient privés d'acide sulfureux libre. Il semble qu'on puisse relier cette évolution aberrante à quatre conditions différentes :

1° Utilisation d'une solution d'acide sorbique trop ancienne.

2° Oxydation profonde obtenue par une conservation prolongée en bouteilles à moitié pleines, à l'étuve ou à la lumière, en dehors de toute intervention microbienne, ou encore par addition d'eau oxygénée, c'est-à-dire dans des conditions surtout expérimentales.

3° Après chauffage prolongé d'un vin blanc sucré n'ayant pas d'acide sulfureux libre.

4° Enfin, cas le plus courant et constaté surtout pour des vins rouges, après un développement bactérien se traduisant soit par une simple fermentation malolactique, soit par une augmentation d'acidité volatile. Les bactéries lactiques en sont les microorganismes responsables, mais une piqûre acétique en bouteilles non pleines conduit au même résultat.

On ne connaît pas le produit odorant formé, ni le processus de sa formation. L'odeur est voisine de celle du géraniol et de ses dérivés ; du reste il est facile de voir une parenté entre cet alcool et deux molécules d'acide sorbique.

Géraniol : $CH_3CH_3C = CH\ CH_2\ CH_2\ C\ CH_3$

$HC\ CH_3OH$

Nous n'avons jamais observé de pareilles odeurs dans des vins ayant de l'acide sulfureux libre en quantité suffisante pour les protéger de l'oxydation et des développements bactériens ou dans des vins rouges stabilisés au point de vue biologique.

Règles d'application dans le vin

1° L'acide sorbique est peu soluble dans l'eau, qui à 20 °C n'en dissout que 1,5 g par litre ; par contre les sorbates de potassium et de sodium sont très solubles et c'est sous la forme de sels qu'on prépare les solutions concentrées pour l'addition au vin. Le sorbate de potassium cristallisé se trouve également dans le commerce ; il contient 75 % de son poids d'acide sorbique. On peut préparer des solutions à environ 200 g d'acide sorbique par litre en dissolvant 270 g de sorbate de potassium.

On peut encore dissoudre l'acide sorbique dans des solutions alcalines. 200 g se dissolvent à froid dans un litre d'eau contenant 72 à 75 g de soude, ou encore dans un litre d'eau portée à 50-60 °C additionnée de 150 g de bicarbonate de sodium ; la dissolution est plus rapide dans le premier cas.

2° Il faut veiller à ce que les solutions mères ainsi préparées soient utilisées à l'état le plus frais possible. L'acide sorbique et le sorbate de potassium ne sont pas toujours vendus directement aux utilisateurs. Souvent les marchands de produits œnologiques préparent à l'avance des solutions de sorbate de potassium ou de sorbate de sodium. Il peut arriver que ces solutions restent en dépôt pendant un temps assez long avant leur utilisation et subissent alors une oxydation partielle. Il s'est produit des cas où l'utilisation de solutions ainsi oxydées a provoqué des modifications de goût dans le vin. Il est évident qu'alors les altérations possibles de la saveur du vin ne doivent pas être attribuées à l'acide sorbique lui-même, mais à ses produits d'oxydation.

3° A cause du peu de solubilité de l'acide, il convient de prendre certaines précautions pour introduire la solution concentrée de sorbate dans le vin. En effet, au

contact de l'acidité du vin, l'acide sorbique est immédiatement libéré et risque de s'insolubiliser. On doit l'ajouter lentement, en versant la solution en filet mince et en agitant constamment, ou mieux à l'aide d'une pompe doseuse à injecter. De cette façon on évite la formation d'un trouble et la précipitation de cristaux d'acide sorbique, par la suite très difficilement solubles, au fond du récipient. Une mauvaise utilisation du produit par mélange insuffisant est assez courante.

4° Contrairement à ce que certains utilisateurs ont pu d'abord croire, l'acide sorbique est beaucoup moins un produit de vinification que de conservation des vins faits. Il ne change pratiquement rien aux règles de la vinification et du mutage des vins doux. En présence de la population entière des levures, l'acide sorbique étant incapable d'arrêter la fermentation et de contribuer au mutage, ce rôle reste toujours dévolu à l'acide sulfureux, et il n'est pas possible de limiter beaucoup les doses employées au mutage sans risque de reprise de la fermentation. Ce n'est qu'après l'élimination des levures par plusieurs soutirages, ou mieux par centrifugation ou filtration, que l'acide sorbique peut être introduit dans le vin.

L'obligation d'assurer le mutage à l'acide sulfureux comme par le passé écarte la possibilité d'employer l'acide sorbique dans les vins très sucrés. On constate dans la pratique qu'au-dessus de 2° Baumé, soit 40 à 45 g de sucres, il est rare que l'acide sorbique puisse être utilisé dans les conditions réglementaires actuelles, l'acide sulfureux total dès après le mutage dépassant 250 mg. Il reste encore beaucoup à expérimenter pour définir les conditions optimales d'utilisation de l'association acide sulfureux-acide sorbique dans le mutage des vins doux.

5° Quelle proportion d'acide sulfureux l'emploi de l'acide sorbique permet-il d'économiser dans la conservation des vins ? C'est une question importante au sujet de laquelle règnent encore certaines erreurs et demeurent beaucoup d'illusions dans l'esprit des experts. En tenant compte des lois du comportement de l'acide sulfureux dans les vins, si bien décrites dans le rapport de KIELHÖFER, on peut essayer de chiffrer la diminution possible de la dose d'acide sulfureux total. Nous allons voir que l'acide sorbique est loin de permettre d'économiser son poids d'acide sulfureux, comme certains ont pu le penser.

Pour assurer la bonne tenue des vins blancs au triple point de vue antibactérien, antioxydant et neutralisation gustative des substances aldéhydiques, propriétés de l'acide sulfureux qu'aucun autre produit ne possède au même titre que lui, on sait qu'il est nécessaire d'entretenir une teneur en acide sulfureux libre au moins égale à 30 ou 40 mg par litre. C'est la dose de conservation des vins blancs secs. L'addition d'acide sorbique grâce à son efficacité antilevure permet d'adopter également ces doses minimales dans le cas des vins doux, alors qu'il faut habituellement 60 à 80 mg d'acide sulfureux libre par litre et pour certains vins de petit degré jusqu'à 100 mg par litre, lorsqu'on fait appel seulement aux propriétés antilevures de l'acide sulfureux.

L'acide sorbique permet donc d'économiser, dans le cas le meilleur, 60 mg d'acide sulfureux libre, soit environ 90 mg d'acide sulfureux total. Cette économie est considérable en ce qui concerne le goût sulfureux et l'amélioration de la qualité. Mais elle ne permet pas d'abaisser la limite d'acide sulfureux total de 450 mg à 250 mg, comme l'avait décidé la réglementation française de 1959. Tout au plus pourrait-on la ramener à 350 ou 375 mg par litre. Des exigences plus sévères témoignent d'une méconnaissance du rôle et des propriétés de l'acide sulfureux dans les vins doux et se heurtent à une impossibilité technique.

En réalité, comme nous l'avons déjà indiqué, l'acide sorbique n'est pas un produit de remplacement de l'acide sulfureux, c'est seulement un produit de renforcement de son action, plus actif que lui, mais uniquement sur les levures.

6° Enfin nous voudrions souligner que le bon emploi de l'acide sorbique, de même que tout traitement appliqué au vin, réclame de vraies connaissances œnologiques. Nous croyons utile de faire part ici de l'expérience pratique que nous avons pu acquérir ces dernières années. Nous avons remarqué en particulier que la majorité des utilisateurs, négociants et producteurs, qui ne sont pas documentés exactement sur les données chimiques et microbiologiques de l'utilisation de l'acide sorbique, croient volontiers que l'on peut trouver dans ce produit une panacée contre toutes les maladies et altérations possibles du vin.

Cette opinion est peut-être due au fait que l'acide sulfureux utilisé jusqu'à présent a une efficacité très universelle contre les levures, les bactéries et les oxydations. Il ne faut cependant pas perdre de vue qu'une action satisfaisante de l'anhydride sulfureux contre les levures n'est assurée qu'avec une concentration d'emploi très élevée et que l'acide sorbique est vingt fois moins nocif que l'anhydride sulfureux.

Dans l'utilisation pratique de l'acide sorbique, que ce soit dans le traitement des vins ou dans l'industrie des jus de fruits, il est important de connaître les limites de ce produit et de les respecter (37). Tout produit, toute méthode de traitement a des limites et une zone optimale d'application qu'il faut connaître. On nous interroge encore trop souvent au sujet de l'efficacité de l'acide sorbique contre la fermentation acétique et les autres fermentations bactériennes. Il est nécessaire d'instruire l'utilisateur afin d'éviter qu'il ne compte trop sur l'acide sorbique et que ce produit déçoive son attente. En réalité, il faut bien dire que pour le moment il n'y a pas de produit conservateur parfait, polyvalent, stable, inoffensif, gustativement neutre, définitif. Certains peuvent s'étonner qu'on n'ait pas encore trouvé un produit antiseptique donnant une sécurité absolue, telle qu'aucun accident de refermentation ne soit jamais plus possible, quelles que soient par ailleurs les conditions défavorables de conservation du vin. Mais nous pensons que de toute façon il n'est pas souhaitable que l'emploi d'un tel produit puisse dispenser des efforts et soins constants qu'on doit appliquer au vin. L'utilisation d'un stabilisant doit en fin de compte améliorer la qualité gustative et non pas aider les solutions de facilité.

On remarquera qu'il n'y a pas dans le traitement des vins de procédé entièrement automatique, qu'il suffise de suivre aveuglément et sans comprendre, comme on copie une recette. Nous pensons que les traitements modernes se caractérisent précisément par l'exigence de meilleures connaissances fondamentales d'œnologie, par un niveau plus grand de technicité et qu'ils ne donnent leur pleine efficacité que lorsqu'ils sont appliqués par des utilisateurs avertis ou sous le contrôle d'œnologues qualifiés.

Références bibliographiques

(1) E. Peynaud. *Vignes et Vins*, 1960, **85**, 15. (2) J. Ribéreau-Gayon et E. Peynaud. *Traité d'œnologie*, Tome II, Béranger, Paris, 1961, p. 658. (3) D. Melnich, F. Luckmann et C. Gooding. *Food Research*, 1959, **19**, 44. (4) M.U. Schelhorn. *Deuts Lebens. Rundschau*, 1954, **50**, 267. (5) E. Beneke et F. Fabian. *Food. Technol.*, 1955, **9**, 486. (6) R. Eeckhaut. *Fermentatio*, 1955, **3**, 136. (7) M. Nomoto Y. Narahashi et Y. Nukawa. *J. Agric. Chem. Soc. Japan*, 1955, **29**, 805. (8) D. Salunkhe. *Food Technology*, 1955, **9**, 590. (9) C. Tarantola. *Atti. Accad. ital. Vite Vino*, 1958, **10**, 147. (10) W. Saller et S.R. Kolewa. *Mitteilungen*, 1957, **7**, 21.

(11) P.F. Chenard. *Journée vinicole*, 22 mars 1959. (12) E. Sudario, *Chimica Industria*, 1957, **39**, 811. (13) E. Kielhöfer. *Das Weinblatt*, 1960, **55**, 991. (14) A. Asvany. *Kiserletugyi Kozlemenyck* (Hongrie), 1959, **52**, 76. (15) C.S. Ough et J.L. Ingraham. *Amer. Journ. Enol. Vitic.*, 1960, **11**, 117. (16) *Kvasny Prumysl.* n° 11, 1962, d'après *Bull. Intern. Vin.*, 1963, **36**, 262. (17) H. Schanderl. *Wein u. Rebe* ,1960, **40**, 680 et 702. (18) R. Auerbach. *Wine and Wines*, 1959, **40**, 26. (19) L.O. Emard et R.H. Vaughn. *J. Bacteriology*, 1952, **63**, 487. (20) F. Winkelmann. *Milchwissenschaft*, 1960, **15**, 565.

(21) W. Döll. *Arch. Lebensm. Hyg.*, 1962, **13**, 4. (22) J. Rocques. *Moniteur vinicole*, n° 98, décembre 1959. (23) A. Barret et P. Bidan. *Vignes et Vins*, 1960, n° 85, 8. (24) M. Van Schelhorn. *Deuts. Lebensm.*

Rundschau, 1954, **50**, 267. (25) J.L. ETCHELLS, T.A. BELL et A.F. BORG. *Bact. Proc.*, 1955, p. 19. (26) T.A. BELL, J.L. ETCHELLS et A.F. BORG. *J. Bacteriology*, 1959, **77**, 573. (27) S. OKA. *Bull. Agric. Chem. Soc. Japon*, 1960, **24**, 59. (28) D. MELNICK, F.H. LUCKMANN et C.M. GOODING. *Food Research*, 1959, **19**, 33. (29) G.K. YORK et R.H. VAUGHN. *Bact. Proc.*, 1955, 20. (30) J.R. WHITAKER. *Food Research*, 1959, **24**, 37.

(31) J.J. AZUKAS, R.N. COSTILOW et H.L. SADOFF. *J. Bacteriology*, 1960, **81**, 189. (32) N.J. PALLERONI et M.J.R. de PRITZ. *Nature*, 1960, **185**, 688. (33) H.J. REHM et U. STAHL. *Zeits. Lebens. Unters. Forsch.*, 1960, **113**, 34. (34) L. BAILLOT D'ESTIVAUX. *Ann. Falsif. Fraudes*, 1959, **52**, 149. (35) A. SCHALLER. *Confructa*, 1961, **2**, 65. (36) T. SABALITSCHKA et H. MARX. *Naturwissenschaft*, 1959, **46**, 648. (37) E. LUCK. *Die indust. Obst. u. Gemüse.*, 1963, n° 2.

Résumé

L'auteur rappelle d'abord les différences considérables qui existent entre les propriétés anti-levures de l'acide sorbique et ses propriétés antibactériennes. Sélectif à l'inverse de l'acide sulfureux, l'acide sorbique s'oppose au développement des levures sans gêner celui des bactéries. De bons résultats pratiques ne peuvent être obtenus dans la conservation avec l'acide sorbique qu'en présence d'une substance antibactérienne.

L'activité de l'acide sorbique est en rapport étroit avec le pH des vins, dans une mesure que ne suffisent pas à expliquer les teneurs de l'acide indissocié. Des phénomènes de perméabilité cellulaire interviennent. L'acide sorbique gêne peu le métabolisme des levures même à dose élevée ; il s'oppose surtout à leur multiplication. On connaît mal son mode d'action. Les hypothèses formulées jusqu'à maintenant (blocage des groupes SH des enzymes, inhibition de l'énolase) ne donnent pas d'explication satisfaisante.

Sa constitution d'acide gras non saturé confère une certaine fragilité à la molécule d'acide sorbique. Il est sensible à l'oxydation et peut être dégradé par voie microbienne. La libération d'aldéhyde crotonique serait à la base de certains mauvais goûts constatés dans des vins altérés.

En conclusion l'auteur souligne qu'il en est de l'emploi de l'acide sorbique comme de tout traitement moderne des vins ; il exige de vraies connaissances œnologiques. Il n'y a pas de traitement absolument automatique ; chacun a des limites et une zone optimum d'application qu'il importe de connaître.

USE OF SORBIC ACID IN THE PRESERVATION ON WINE

E. PEYNAUD

Summary

The author first recalls the considerable differences existing between the yeast-preventing properties of sorbic acid and its antibacterial properties. Selective in a manner contrary to that of sulfur dioxide, sorbic acid checks the development of yeasts without preventing the growth of bacteria. Successful practical results cannot be obtained in the preservation with sorbic acid without the presence of a antibacterial substance.

The activity of sorbic acid is closely related to the pH of wine, to an extent which cannot be accounted for by the various contents of the undissociated acid. Cellular permeability phenomena intervene. Sorbic acid interferes little with the yeast metabolism, even when the amount of acid used is high ; it mainly checks the multiplication of yeasts. Its mode of action is not very well known as yet. All hypotheses which have been laid down until now (blocking of the SH groups of enzymes, inhibition of enolase) do not give satisfactory explanations.

Its constitution as an un-saturated fatty acid makes the molecule of sorbic acid rather unstable. It responds readily to oxidation and can be deteriorated through microbial reaction. The liberation of crotonic aldehyde would appear to be basically responsible for some of the bad tastes noticed in tainted wines.

As a conclusion, the author points out that as it is with the use of sorbic acid so it is with any other modern treatments of wine : they require a real enological knowledge. No treatment is automatically and simply used ; each one of them has its bounds and an optimum zone of application which it is essential to know.

DIE ANWENDUNG DER SORBINSÄURE ZUR HALTBARMACHUNG DER WEINE

E. PEYNAUD

Zusammenfassung

Zuerst erinnert der Verfasser an die beachtlichen Unterschiede in der Wirkung der Sorbinsäure auf Hefen und Bakterien. Im Gegensatz zur Schwefeligen Säure wirkt die Sorbinsäure auf die Hefeentwicklung ohne die Bakterien zu beeinflussen. Befriedigende Resultate können daher bei der Weinkonservierung mit Sorbinsäure nur in Gegenwart einer bakteriell wirksamen Substanz (freie Schwefelige Säure) erzielt werden. Die Wirksamkeit der Sorbinsäure steht in direktem Zusammenhang

mit dem pH-Wert der Weine. Es treten Erscheinungen von Zelldurchlässigkeit auf. Die Sorbinsäure behindert kaum den Stoffwechsel der Hefen, auch nicht bei grösseren Zugaben, und verhindert vor allem ihre Vermehrung. Man weiss nur wenig über ihre Wirkungsweise. Die bis jetzt formulierten Hypothesen (Blockierung der SH-Gruppen der Enzyme, Hemmung der Enolase) geben keine zufriedenstellende Erklärung.

Die Konstitution einer ungesättigten Fettsäure verleiht dem Sorbinsäuremolekül eine gewisse Instabilität. Es ist dem Sauerstoff gegenüber sehr empfindlich und kann auf mikrobiologische Weise abgebaut werden. Die Entstehung von Crotonaldehyd wäre die Ursache des schlechten Geschmackes, den man in älteren behandelten Weinen feststellen kann. Zum Schluss unterstreicht der Verfasser, dass es mit der Anwendung der Sorbinsäure genau so ist wie mit allen anderen modernen Weinbehandlungsmethoden : sie erforden gut önologische Kenntnisse. Es gibt kein vollkommen automatisch wirkendes Weinbehandlungsmittel. Jedes hat seine Grenzen und seine optimalen Anwendungsgebiete, die man kennen muss.

L'IMPIEGO DELL'ACIDO SORBICO NELLA CONSERVAZIONE DEI VINI

E. PEYNAUD

RIASSUNTO

L'autore ricorda dapprima le notevoli differenze esistenti tra le proprietà inibitrici dell'acido sorbico nei riguardi dei lieviti, e le sue proprietà antibatteriche. Selettivo, in maniera inversa a quella dell'acido solforoso, l'acido sorbico s'oppone allo sviluppo dei lieviti, senza disturbare quello dei batteri. Non si possono ottenere dei buoni risultati pratici nella conservazione dei vini con l'acido sorbico, che in presenza di una sostanza antibatterica.

L'attività dell'acido sorbico è in stretto rapporto con il pH dei vini, in una misura che i tenori dell'acido indissociato non bastano a spiegare. Intervengono fenomeni di permeabilità cellulare. L'acido sorbico disturba poco il metabolismo dei lieviti, anche a dosi elevate ; si oppone soprattuto alla loro moltiplicazione. Si conosce male il suo modo d'azione. Le ipotesi formulate fino a questo momento (bloccaggio dei gruppi SH degli enzimi, inibizione dell'enolasi) non danno una spiegazione soddisfacente.

La sua struttura d'acido grasso insaturo, conferisce una certa fragilità alla molecola d'acido sorbico. E sensibile all'ossidazzione, e puo essere degradato per via microbica. La liberazione d'aldeide crotonica sarebbe alla base di certi cattivi sapori constatati in alcuni vini alterati.

In conclusione l'autore sottolinea che l'impiego dell'acido sorbico come di ogni altro trattamento moderno dei vini esige delle vere conoscenze enologiche. Non esistono trattamenti assolutamente automatici ; ciascuno ha dei limiti, ed una zona optimum d'applicazione che è necessario conoscere.

EMPLEO DEL ACIDO SORBICO EN LA CONSERVACIÓN DE LOS VINOS

E. PEYNAUD

RESUMEN

El autor recuerda primeramente las diferencias considerables que existen entre las propiedades antilevaduras del ácido sórbico y sus propiedades antibacterianas. Selectivo al contrario del ácido sulfuroso, el acido sorbico se opone al desarrollo de las levaduras sin molestar el de las bacterias. No pueden obtenerse buenos resultados prácticos en la conservacion con acido sorbico, más que en presencia de una substancia antibacteriana.

La actividad del acido sórbico esta en relación estrecha con el pH de los vinos, en una medida que no es suficiente a explicar las dosis del acido indisociado. Fénomenos de permeabilidad celular intervienen. El acido sórbico molesta poco el metabolismo de las levaduras aun en dosis elevadas, se opone sobre todo a su multiplicación. Se conoce mal su modo de acción. Las hypótesis formuladas hasta el momento (bloqueo de los grupos SH de las enzymas, inhibición de la enolasa) no dan una explicación satisfactoria.

Su constitución de ácido graso no saturado le da una cierta fragilidad a la molecula de ácido sórbico. Es sensible a la oxidación y puede ser degradado por via microbiana. La liberación de aldehido crotónico seria la base de ciertos malos gustos constatados en los vinos alterados.

En conclusión el autor subraya que en el empleo del ácido sórbico, como en todo tratamiento moderno de los vinos, es necesario verdaderos conocimientos enologicos. No hay tratamientos absolutamente automaticos, cada uno tiene limites y una zona optima de aplicación que es importante conocer.

DISCUSSION

M. Florentin (Membre du Conseil supérieur d'Hygiène publique de France, Paris) félicite M. Peynaud de sa mise au point sur l'emploi de l'acide sorbique. Il indique que le corps médical considère que l'ingestion de quantités importantes d'acide sulfureux est nuisible à la santé ; c'est pourquoi l'emploi de l'acide sorbique a rencontré sa faveur en permettant la diminution du taux d'acide sulfureux. Comme praticien, M. Florentin a vu traiter des dizaines de milliers d'hl de vins blancs sans aucun incident et ces vins ont la faveur des usagers qui n'apprécient pas le goût d'« allumette » des vins riches en acide sulfureux. Il importe que les traitements à l acide sorbique soient dirigés par un œnologue compétent.

M. Vega (Mendoza, Argentine) : 1) A partir de quelle dose limite perçoit-on le goût de l'acide sorbique ? 2) Les vins rouges prennent-ils plus facilement un mauvais goût ? 3) Quelle est l'influence de doses élevées de sucre ?

Réponse : Dans notre rapport il est précisé qu'aux doses d'emploi autorisées en France (200 mg par l), le goût de l'acide sorbique pur n'est pas perceptible pour des dégustateurs exercés. Il est certain que les vins rouges peuvent prendre un mauvais goût accidentel plus facilement que les vins blancs, car ils sont généralement moins sulfités et peuvent être le siège d'une attaque microbienne par exemple. Enfin nous n'avons pas constaté d'influence directe de la teneur en sucre sur les mauvais goûts accidentels dus à la dégradation de l'acide sorbique.

M. Rosenthal (Rishon-le-Zion, Israël) : A quelle température ont été conservés les vins traités ? En Israël, on perçoit gustativement une addition de 200 mg par l.

Réponse : Les vins traités à l'acide sorbique sont évidemment conservés à la température normale du climat français. Il est probable que les types de dégradation de l'acide sorbique envisagés sont plus rapides ou plus accentués à température plus élevée ; dans ce cas un sulfitage plus important s'impose.

M. Amerine (Davis, U.S.A.) : Combien de personnes étaient utilisées (dans les équipes de dégustateurs) pour étudier l'effet de l'acide sorbique sur le goût du vin ?

Réponse : La neutralité de l'acide sorbique aux doses d'emploi a été reconnue par tous les professionnels utilisateurs. Il peut y avoir une influence de la préparation du produit. Dans les épreuves de dégustation, nous estimons, en France, que la « qualité » des dégustateurs est plus importante que leur nombre.

EMPLOI DU PYROCARBONATE D'ÉTHYLE DANS LE TRAITEMENT DES VINS

K. HENNIG

Directeur de la Station d'Enseignement et de Recherches pour la Viticulture, l'Arboriculture et l'Horticulture, Geisenheim (Allemagne)

L'ester diéthylique de l'acide pyrocarbonique ou pyrocarbonate d'éthyle (P.C.E.) a été préparé pour la première fois à l'état de pureté par BOEHM et METHA (1) en 1938. Les propriétés conservatrices de cet ester ont été reconnues dans les laboratoires de la « Farbenfabrik Bayer » à Leverkusen, en 1955. Ce produit a été essayé en 1956-1957 dans les laboratoires de recherches de l'Institut de Biochimie et Chimie œnologique à Geisenheim. Il est résulté de ces essais que le P.C.E. était utilisable pour la protection des vins sucrés contre les troubles des levures après la mise en bouteilles. Cependant il était nécessaire d'élaborer les prévisions techniques pour l'utilisation du P.C.E.

Il s'ensuivit, en 1959, la première publication sur ce nouvel inhibiteur de fermentation dans le domaine de l'œnologie par HENNIG (2), dans la « Deutschen Lebensmittelrundschau ».

HECHT (3) a démontré, dans des recherches de toxicité aiguë et subaiguë, que la toxicité du P.C.E. était faible. L'addition de P.C.E. à du jus de raisin présenté comme boisson à des rats n'a montré aucune suite défavorable. BORNMANN et LOESER (4) se sont prononcés également sur cette absence de toxicité.

Ces dernières années sont apparus dans d'autres régions, toute une série de travaux sur le P.C.E. MAYER (5), LÜTHI et son collaborateur (6), ainsi que MARTIENSSEN (7) observent une action fongicide vis-à-vis des levures dans les jus de fruits. Des recherches semblables ont été conduites par TÖRÖK et ses collaborateurs (8), ainsi que par MEHLITZ et TROMMER (9) dans des jus de pommes. SCHMIDT-LORENZ et HANSEN (10) jugent prometteur l'emploi du P.C.E. pour prolonger la conservation des fraises fraîches. SCHMIDT-LORENZ (11) a éprouvé l'aptitude ce produit pour la conservation des volailles abattues ; une prolongation de la conservation de 60 à 65 % a pu être atteinte ; mais l'ester se concentre dans les graisses de la peau. HÖVELMANN (12) rend compte de ses essais avec le P.C.E. dans les boissons gazeuses à base de jus de fruits et le conseille dans l'industrie des boissons. MÖNCH (13) a trouvé une influence sur le goût dans la conservation de la bière, car il travaillait avec des doses très élevées, jusqu'à 2 000 mg par litre. THOUKIS et ses collaborateurs (14) recherchent la réaction du P.C.E. marqué au carbone radioactif ^{14}C. Dans l'eau le P.C.E. marqué

s'hydrolyse complètement. Dans le vin à pH 3,3, l'hydrolyse atteint seulement 97 à 98 %.

KIELHÖFER (15) a publié un travail détaillé sur les résultats de recherches, expériences et réflexions dans l'emploi du P.C.E. pour la conservation en bouteilles de vins ayant du sucre non fermenté.

DOSES D'EMPLOI DU PYROCARBONATE D'ÉTHYLE DANS LES VINS DOUX

Dans leur notice définitive (16) les Farbenfabriken Bayer A.G., Usine d'Uerdingen, indiquent qu'une dose de 3 g de P.C.E. par hectolitre est suffisante, avec la propreté et l'attention nécessaires. Le tableau qu'elles donnent ensuite propose une proportion de 20 à 50 g par hectolitre pour le jus de raisin. HENNIG (17) a conseillé 5 à 10 g par hectolitre de P.C.E. et, dans un travail ultérieur (18), 10 à 20 g par hectolitre à ajouter peu de temps avant la mise en bouteilles. Pour des vins débarrassés de leurs germes de façon assez poussée, on peut travailler avec succès avec des quantités plus faibles encore. KIELHÖFER (19) a pu stabiliser biologiquement un vin de Riesling de la Moselle, qui avait été ensemencé avec une culture pure de façon à obtenir des populations de 500 à 16 000 cellules de levures par litre, avec 5 g de P.C.E. par hectolitre. MAYER et LÜTHI (5) ont pu détruire une levure de vin « Fendant » seulement avec 30 g par hectolitre. D'après KIELHÖFER (15) 5 à 7,5 g de P.C.E. par hectolitre suffisent à la conservation des vins en bouteilles ayant encore du sucre. VAN ZYL (20) a déterminé les quantités de P.C.E. nécessaires pour éliminer les levures qui font refermenter ou troubler les vins d'Afrique du Sud. *Sacch. cerevisiae*, *Sacch. oviformis*, *Brettanomyces*, *Saccharomycodes ludwigii*, *Streptococcus* et *Pichia membranaefaciens* sont déjà tués avec 5 à 10 g par hectolitre ; la levure *Candida krusei* formant un voile nécessite déjà 20 g par hectolitre. *Sacch. acidifaciens* montre une résistance étonnante. Cependant l'efficacité du P.C.E. vis-à-vis des levures est élevée de 60 à 80 % dans les vins en présence d'acide sulfureux. Pour les vins comme pour les jus de fruits (21) 5 à 10 g de P.C.E. par hectolitre sont généralement nécessaires.

EMPLOI TECHNIQUE DU PYROCARBONATE D'ÉTHYLE DANS LES CHAIS

Le P.C.E. est peu soluble dans l'eau ou dans les solutions alcooliques faibles. Pour cette raison, dans les premières recherches avec ce produit, HENNIG (18) a utilisé comme solvant de l'alcool pur à 96°. Il était ajouté une solution à 10 ou 20 % de P.C.E. dans l'alcool pur avec un fort pompage et brassage du vin clair peu de temps avant l'embouteillage ; l'autorisation de cette méthode se serait heurtée à des difficultés en Allemagne, car il n'est pas autorisé d'ajouter de l'alcool au vin.

Il est possible d'introduire le P.C.E. de façon mécanique, sans dilution préalable dans l'alcool, à l'aide d'un appareil rotatif de mélange à grande vitesse. Cependant dans cette opération le vin est émulsionné avec de grandes quantités d'air, qui provoquent une oxydation. Des vins blancs et rouges normaux contiennent 1 à 2 mg d'oxygène par litre. Après le mélange, la teneur monte à 6 mg par litre ; les vins sont saturés d'oxygène.

On peut pallier cet inconvénient, d'après HENNIG (22), lorsqu'on vaporise le P.C.E. dans le vin avec un gaz inerte pour le vin, comme l'azote ou le gaz carbonique ;

la firme Schenk-Filterbau, de Schwäbisch Gmünd, a construit suivant les données de l'auteur, un vaporisateur très efficace (fig. 1).

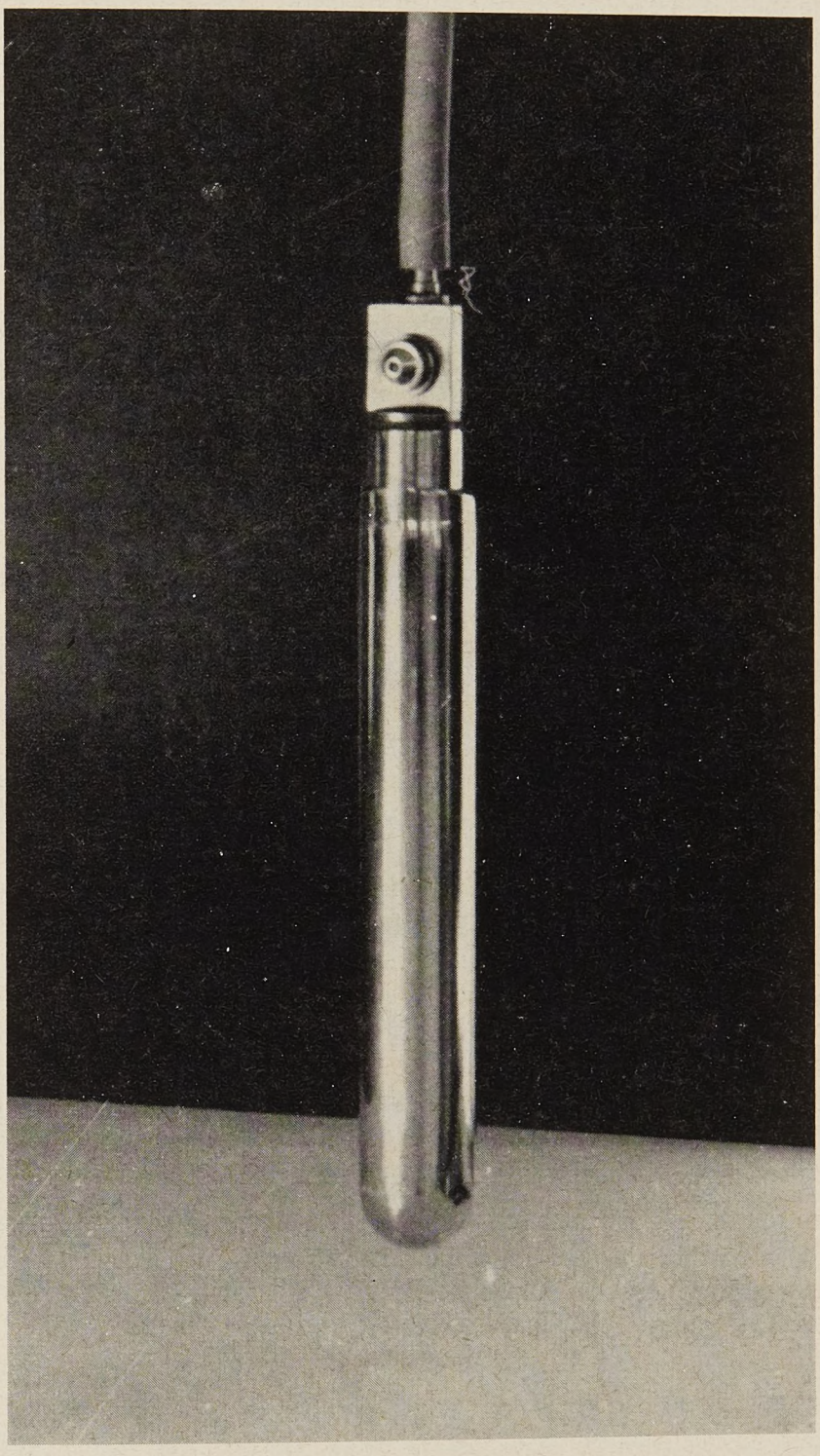


FIG. 1.

Cet appareil se compose d'un cylindre d'acier inoxydable de 25 cm de longueur et de 4 cm de diamètre, pouvant contenir jusqu'à 200 ml de P.C.E. Après remplissage, est vissée la tête injecteuse comportant un vaporisateur spécial. Le gicleur est réglé à l'aide d'une vis à la plus fine dispersion. Sur le dessus est fixé un tuyau de caoutchouc résistant, relié au détendeur à manomètre d'une bouteille d'azote ou de gaz carbonique. Puis on introduit le tuyau de caoutchouc et l'appareil injecteur par l'orifice de bonde du fût, dans lequel se trouve le vin à traiter préparé pour la mise en bouteilles.

On donne alors avec le manodétendeur une pression de 1,5 à 2 atmosphères d'azote ou de gaz carbonique dans le vaporisateur. En l'espace de 60 s, les 200 ml de P.C.E. sont dissous dans le vin qui reste limpide, sans formation de gouttelettes. Le tirage en bouteilles peut commencer.

Le prix de l'appareil est d'environ 300 DM (environ 360 F).

Pour de petites exploitations, embouteillant 1 000 hl par an, il est dépensé pour l'utilisation de 10 g de P.C.E. par hectolitre, avec un amortissement de 500 DM pour la totalité de l'appareillage et 900 DM pour le produit, en tout 1 400 DM, soit 1,40 DM (1,70 F) par hectolitre ou 0,014 DM (0,017 F) par litre de vin (sans compter le renouvellement de l'azote).

D'après HENNIG (23) la pompe doseuse à membrane Orlita KG, type DMP x 1, 1 115 I (Giessen Lahn) convient pour les installations importantes de mise en bouteilles continue. Les avantages suivants sont à signaler : une construction robuste, nécessitant peu de soins, d'une grande sûreté de travail, d'un réglage continu pouvant s'effectuer en cours de fonctionnement ; après réglage pas de modification spontanée de l'exactitude du dosage ; réglage fin au moyen d'une vis micrométrique de grande dimension et large échelle de réglage ; la plus grande précision de dosage jusqu'à 0,1 % et même moins ; dosage exact, sans interruption de l'écoulement jusqu'à 40 ml à l'heure.

Cette pompe a été essayée dans des recherches sur de petits et de grands volumes, pour des périodes d'embouteillage allant jusqu'à une semaine, et elle a fonctionné sans réclamation.

La figure 2 représente l'ensemble de l'appareil. Le produit à vaporiser est placé dans un récipient de matière plastique, relié à un tube gradué (sur le côté du récipient). L'afflux du P.C.E. du récipient au tube gradué est commandé par un robinet et le produit s'écoule vers la pompe doseuse. On peut lire avec exactitude sur le cadran combien de liquide s'écoule dans l'unité de temps. Au moyen de la vis micrométrique placée sur le socle, on obtient un dosage exact. Sur le côté gauche de l'appareil se trouve le raccord des tuyauteries d'arrivée et de départ du vin. L'arrivée se fait par la jonction verticale, le départ par la jonction horizontale, qui, après démontage, montre la chambre d'injection et le gicleur travaillant sous 60 à 80 atmosphères de pression et vaporisant l'ester dans le vin. Si l'on raccorde un tube de polyéthylène, on peut voir par transparence comment d'un seul coup l'ester est vaporisé dans le vin, ou pour mieux dire atomisé ou « nébulisé ».

Une question peut se poser encore : où doit-on placer l'appareil doseur ? Entre la pompe et le filtre ou après le filtre, juste avant la tireuse ? Les deux méthodes ont été essayées avec le même succès positif dans des recherches sur de grands volumes.

La pompe doseuse Orlita coûte 4 000 DM (4 800 F), le pyrocarbonate d'éthyle (Baycovin) 90 DM (108 F) le kg. Pour un embouteillage de 10 000 hl par an, un temps d'amortissement de la pompe doseuse de deux ans et une utilisation du P.C.E. à raison de 10 g par hl, les frais totaux du traitement pour une année se montent à 9 000 DM (10 800 F) pour le produit et 2 000 DM (2 400 F) pour la pompe, soit au total 11 000 DM (13 200 F). Le traitement revient donc à 1,10 DM (1,32 F) l'hl ou 0,011 DM (0,013 F) le litre (sans compter la dépense du courant électrique).

Dans des essais pratiques on a traité des volumes de vin jusqu'à 10 hl par dispersion du P.C.E. à l'aide d'azote. Les essais ont été faits dans des fûts à parois de verre. Il a pu être observé de cette façon que le produit est divisé si finement qu'il se dissout aussitôt dans le vin.

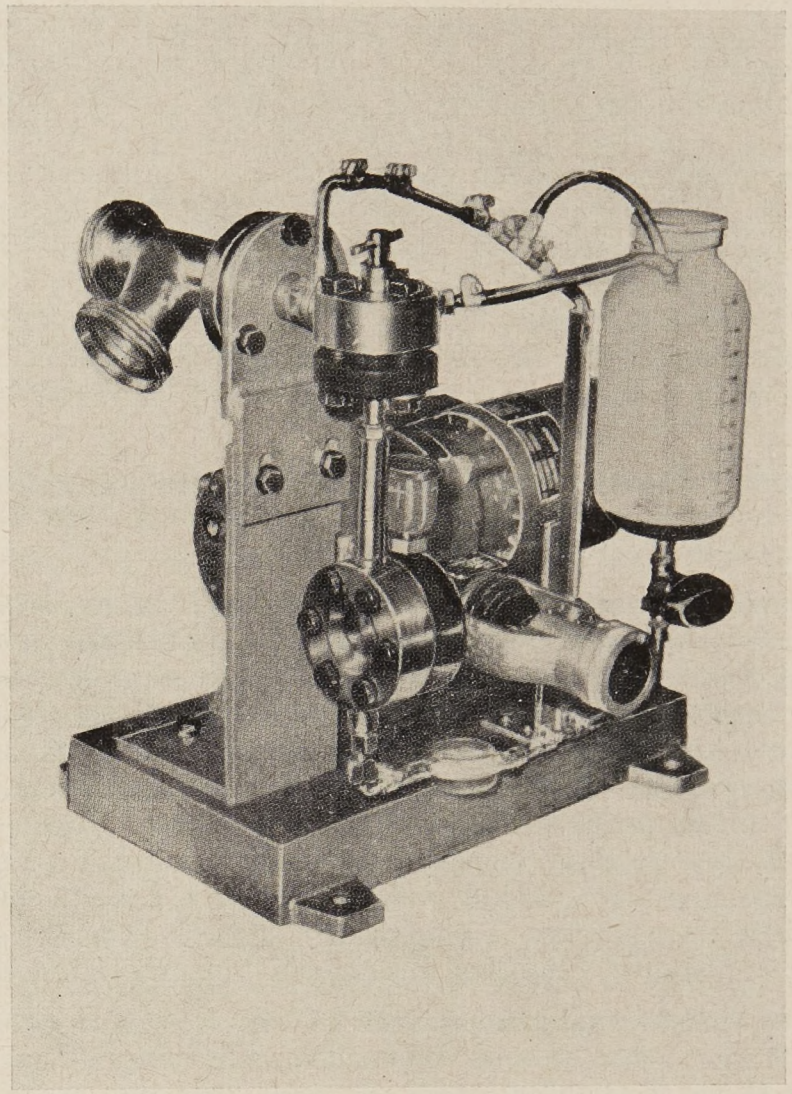


FIG. 2.

Les essais avec la pompe à membrane Orlita furent conduits avec des volumes de 2 000 hl et davantage. L'injection a pu être réalisée sans interruption, ni difficultés. A la sortie de l'injecteur avait été fixé un tube de polyéthylène transparent ; il pouvait être observé facilement par éclairage que le brouillard produit se dissolvait de façon homogène dans la boisson.

Les problèmes de l'utilisation technique sont donc résolus. Le P.C.E. peut être ajouté directement au vin par injection et vaporisation sans utiliser d'alcool comme solvant.

LES PROPRIÉTÉS DU PYROCARBONATE D'ÉTHYLE, SON HYDROLYSE ET LE PROBLÈME DE LA FORMATION DU CARBONATE D'ÉTHYLE

Le P.C.E. est un liquide limpide, incolore, d'une odeur légèrement fruitée. Le produit bout à 155 °C en se décomposant. Sa densité est 1,12 à 20 °C.

Dans l'eau, sa solubilité est 0,6 %. En 8 heures à 20 °C ou 16 heures à 12 °C, le P.C.E. est complètement décomposé. Une série de chimistes soviétiques ont déjà travaillé il y a quelques années sur cette hydrolyse, c'est-à-dire sur la décomposition du P.C.E. en alcool et gaz carbonique. AGABALJANS (24) a cru pouvoir affirmer que

dans les vins mousseux le gaz carbonique se trouve sous les états libre, dissous et combiné. PARFENTJEW et KOWALENKO (25) ont étudié la possible signification du P.C.E. pour l'obtention des caractères du champagne dans les vins mousseux. Ils pensent, d'après les recherches de MERSHANIAN (26), que le P.C.E. peut rester présent sans notable décomposition dans un produit comme le vin mousseux. Ce chercheur a ajouté du P.C.E. à de tels vins et a voulu démontrer que, sous pression, se produisait seulement une hydrolyse partielle de l'ester. Les recherches des « Farbenfabriken Bayer » n'ont pas confirmé ce fait. Les essais ont été poussés jusqu'à une pression de gaz carbonique de 10 atmosphères. D'après PARFENTJEW et SALTSCHINKIN (27), seul l'ester éthylique normal de gaz carbonique, le carbonate d'éthyle, a une importance dans la formation du bouquet des vins. L'ester acide de l'acide carbonique est instable.

Il peut être affirmé avec certitude, que le P.C.E. est décomposé dans les vins tranquilles normaux en l'espace de 8 à 16 heures, suivant la température du vin. Il s'opère une hydrolyse.

Dans les premières recherches, on utilisait l'alcool comme solvant du P.C.E. On observait alors que le seuil de sensation gustative du produit était variable pour une même dose d'utilisation de 20 g par hl. Par dégustation des vins traités, il est apparu qu'il se développait un léger faux goût, qui pouvait être comparé à l'arôme de la pomme ; cet arôme était plus ou moins fort. Un contrôle montra que les premières préparations contenaient de petites quantités de carbonate d'éthyle. Si le P.C.E. reste un certain temps en contact avec l'alcool dans lequel il est dissous, il s'opère une hydrolyse, pendant laquelle se forme du carbonate d'éthyle. Par l'utilisation des moyens mécaniques décrits pour incorporer le P.C.E., cette formation du carbonate d'éthyle est empêchée. L'emploi de l'appareil Schenk ou de la pompe Orlita doit par conséquent remplacer absolument l'incorporation avec l'alcool.

Pendant que KOZENKO (28) trouve dans les vins de table normaux 17 à 18 mg de carbonate d'éthyle par litre, dans les vins normaux 60 à 70 mg et dans les vins mousseux vieux 90 à 98 mg, KIELHÖFER établit que dans l'hydrolyse de 100 mg de P.C.E. ajoutés au vin, il peut se former jusqu'à 6 mg de carbonate d'éthyle par litre. KIELHÖFER et WÜRDIG ont démontré la présence de carbonate d'éthyle par la chromatographie en phase gazeuse. Ils extraient cet ester avec le pentane et utilisent une colonne de polyéthylène glycol sur terre d'infusoires à 110 °C. D'après leurs données il n'existerait pas naturellement de carbonate d'éthyle dans le vin. La quantité de carbonate d'éthyle produite dans la fabrication du P.C.E. est de l'ordre de 0,5 %. A partir de 100 mg de P.C.E. par litre se forment, pour chaque degré alcoolique, 0,40 à 0,65 mg de carbonate d'éthyle, soit pour 10° d'alcool 4 à 6 mg par litre. Cependant on doit observer que dans la détermination par chromatographie gazeuse, le pic du carbonate d'éthyle se confond avec le pic de l'acétate d'isoamyle. KOCH (30) pense qu'à cause de la formation du carbonate d'éthyle dans le vin, le P.C.E. doit être classé parmi les antiseptiques de conservation, d'après la loi allemande sur les matières alimentaires (et non parmi les produits ne laissant aucune trace).

KOVACS et WOLF (31) dosent le carbonate d'éthyle à l'aide d'une colonne de « Resoflex » à 130 °C et une température d'admission de 370 °C. Ils démontrent que l'hydrolyse du P.C.E. donne, à côté de l'alcool et du gaz carbonique, du carbonate d'éthyle, mais ils confirment l'affirmation de KOSENKO (28) selon laquelle le carbonate d'éthyle est présent dans les vins tranquilles et les vins mousseux.

Nos propres recherches montrent qu'un petit pic peut être observé dans la chromatographie en phase gazeuse à l'emplacement du carbonate d'éthyle, pour des vins qui cependant n'ont pas été traités au P.C.E.

Il est certain que de très petites quantités de carbonate d'éthyle inévitables au point de vue technique, accompagnent le P.C.E. et sont introduites dans le vin avec lui. D'autre part l'hydrolyse en milieu alcoolique produit aussi une petite quantité de carbonate d'éthyle, qui peut être reconnue seulement par chromatographie en phase gazeuse. La question de savoir si le carbonate d'éthyle existe également naturellement dans les vins, tranquilles et mousseux, n'est pas encore résolue, car pour avoir cette certitude un grand nombre de vins doivent être examinés. Il n'est pas exclu que la population des levures est capable de former du carbonate d'éthyle.

L'emploi de 5 à 10 g de P.C.E. par hl suffit en général pour la conservation des vins. Pour un nombre de germes un peu élevé dans les vins à traiter, 15 à 20 g de P.C.E. sont cependant nécessaires.

Traitement des vins avec le pyrocarbonate d'éthyle

Le P.C.E. peut être dissous correctement dans le vin par vaporisation ou injection.

Avec l'utilisation de l'appareil Schenk, on peut traiter des vins en fûts ou en tanks. Dans le dosage du produit, on doit respecter les délais de mise en bouteilles ainsi que la température du vin. Un surdosage convenable est nécessaire, de façon à ce que la dernière bouteille tirée du tank contienne encore suffisamment de P.C.E. pour détruire les microorganismes. Par injection à l'aide de la pompe à membrane, il n'est pas besoin de considérer un délai de mise en bouteilles, puisque la pompe injecte le produit au fur et à mesure du tirage.

Le traitement avec le P.C.E. doit être effectué peu de temps avant le remplissage des bouteilles et leur bouchage.

Les bouchons seront utilement stérilisés au moyen d'anhydride sulfureux. Sinon les levures qui se trouvent accidentellement sur les bouchons et sont introduites dans le vin après la décomposition du P.C.E., pourraient provoquer une refermentation.

Références bibliographiques

(1) Th. Boehm et D. Metha. *Ber. Dtsch. chem. Ges.*, 1938, **71**, 1797. (2) K. Hennig. *Deutsche Lebensmittelrundschau*, 1959, **55**, 297. (3) G. Hecht, *Ztschr. Lebensmittel-Unters. Forschg.*, 1961, **114**, 292. (4) G. Bornmann et A. Loeser. *Arch. f. Toxikologie*, 1961, **19**, 69. (5) K. Mayer et H. Lüthi. *Mitt. Lebensmittelunters. Hygiene*, 1960, **51**, 132. (6) H. Lüthi, K. Mayer et Hotz. *Internationale Fruchtsaft-Union Berichte der wissenschaftlichtechnischen Kommission*, 1961, **3**, 167. (7) E. Martienssen. *Fruchtsaft-Industrie*, 1961, **6**, 201. (8) G. Rorok, Gy. Nagy et K. Balint. *Ztschr. Lebensmittel-Unters Forsch.*, 1961/62, **116**, 497. (9) A. Mehlitz et J. Trommer. *Die industrielle Obst und Gemüseverwertung*, 1962, **47**, 434. (10) W. Schmidt-Lorenz et H. Hansen. *Fruchtsaft-Industrie*, 1962, **7**, 293.

(11) W. Schmidt-Lorenz. *Ztschr. Lebensmittel-Unters. Forschg.*, 1962, **7**, 293. (12) H. Hovelmann. *Mineralwasser-Zeitung*, 1962, **15**, N° 47. (13) G. Mönch, *Brauwissenschaft*, 1961, **14**, 257. (14) G. Thoukis, R.J. Bouthilet, M. Ueda et A. Caputi. *Amer. Journ. Enolog. Vitic.*, 1962, **13**, 105. (15) E. Kielhöfer. *Weinberg u. Keller*, 1962, **9**, 235. (16) Notice Farbenfabriken Bayer A.G., Usine d'Uerdingen. (17) K. Hennig. *Deutsche Lebensmittelrundschau*, 1959, **55**, 297. (18) K. Hennig. *Weinberg u. Keller*, 1960, **7**, 351. (19) E. Kielhöfer, *Deutsche Wein Zeitung*, 1960, **96**, 820. (20) J.A. Van Zyl. *South African Journal of Agricultural Science*, 1962, **5**, 293.

(21) Farbenfabriken Bayer A.G., Leverkusen. « Baycovin zur Kaltentkeimung von alkoholfreien Getränken » 1.8.1962. (22) K. Hennig. *Weinberg u. Keller*, 1961, **8**, 215. (23) K. Hennig. *Weinberg u. Keller*, 1962, **9**, 271. (24) G.G. Agabaljanz. *Arbeiten des Institutes für Weinbereitung u. Weinbau*, Krasnodar, 1940, **1**, 23. (25) L.N. Parfentjew et Kowalenko. *Vinod Vinograd.* URSS, 1951, **11**, 16. (26) A.A. Mershanian. *Vinod Vinograd* URSS 1951, **11**, 19. (27) L.N. Parfentjew. und Saltschinkin. *Arbeiten des Institutes für Lebensmittelindustrie*, Krasnodar. 1948, **4**, 123 et 131. (28) E.M. Kozenko, 1952, **12**, 25. (29) E. Kielhöfer et G. Wurdig. *Lebensmittelchemie u. gerichtliche Chemie*, 1963, **17**, 31. (30) J. Koch. *Flüssiges Obst*, 1962, **2**, 1. (31) A.S. Kovacs et H.O. Wolf. *Die industrielle Obst. u. Gemüseverwertung*, 1963, **48**.

Résumé

Les vins sucrés peuvent être stabilisés au point de vue biologique avec 5 à 10 g de pyrocarbonate d'éthyle par hl. L'emploi conjoint de l'acide sulfureux est toujours conseillé pour éviter les troubles par développement de levures. La proportion d'acide sulfureux libre peut cependant être abaissée (10 à 15 mg par l). En présence d'acide sulfureux, l'efficacité du produit est augmentée de 60 à 70 %. Dans des essais pratiques, on a traité des quantités de vin jusqu'à 10 hl par dispersion du pyrocarbonate d'éthyle sous pression dans la masse au moyen d'azote gazeux. De grandes quantités de vin peuvent être traitées à l'aide d'une pompe doseuse à membrane. L'injection s'effectue continuellement. Par ces deux procédés, le produit se dissout effectivement dans le vin.

De minimes quantités de carbonate d'éthyle, qui peuvent être seulement identifiées par la chromatographie en phase gazeuse, se forment au cours de l'hydrolyse dans le vin. Cependant la question de savoir si du carbonate d'éthyle est normalement présent dans le vin n'est pas encore éclaircie. Le seuil gustatif du carbonate d'éthyle dans le vin se situe entre 30 et 60 mg par l. Le carbonate d'éthyle se forme par hydrolyse du pyrocarbonate d'éthyle en relation avec le degré alcoolique du vin. Si un vin de 10° d'alcool reçoit 10 g de pyrocarbonate d'éthyle par hl, il se forme au maximum 6 mg de carbonate d'éthyle par l. Seulement une quantité cinq fois plus grande de carbonate d'éthyle, nécessitant une addition de 50 g de pyrocarbonate d'éthyle par hl, serait gustativement décelable.

Le traitement avec le pyrocarbonate d'éthyle doit être effectué peu de temps avant le tirage en bouteille et le bouchage. Les bouchons sont utilement stérilisés à l'acide sulfureux.

USE OF DIETHYL PYROCARBONATE IN THE TREATMENT OF WINE

K. HENNIG

Summary

Sweet wines can be stabilized from a biological point of view with 5 to 10 g per hl of diethyl pyrocarbonate. The use of sulfur dioxide in connection with diethyl pyrocarbonate is always recommended with a view to preventing turbidities arising from the development of yeasts. The proportion of free sulfur dioxide can very well be lowered (10 to 15 mg per l). In the presence of sulfur dioxide, the efficiency of the product is increased by 60 to 70 %. In practical tests, up to 10 hl of wine have been treated by dispersion of diethyl pyrocarbonate under pressure into the whole quantity of wine by means of gaseous nitrogen. Large quantities of wine can be treated with the aid of a dosing diaphragm pump, and in a non-stop manner. With these two devices the product does dissolve in the wine.

Very small quantities of diethyl carbonate, which are solely identified by vapour phase chromatography appear during hydrolysis in wine. However, it has not yet been cleared up whether diethyl carbonate is normally present in wines.

If 10 g per hl of diethyl pyrocarbonate is added to a wine, the alcoholic content of which is 10°, a maximum of 6 mg of diethyl carbonate per liter forms. But only a quantity of diethyl carbonate 5 times bigger which would then entail an addition of 50 g of diethyl pyrocarbonate per hl, would be gustatively detectable.

The diethyl pyrocarbonate treatment must be carried out shortly before bottling and corking. Corks are usefully sterilized with sulfur dioxide.

DIE VERWENDUNG DES PYROKOHLENSÄUREDIÄTHYLESTERS BEI DER WEINBEHANDLUNG

K. HENNIG

Zusammenfassung

Weine mit einem Restzuckergehalt können mit 5 bis 10 g/hl Pyrokohlensäurediäthylester biologisch stabilisert werden. Die Mitverwendung von schwefliger Säure empfiehlt sich nach wie vor, um Hefetrübungen zu vermeiden. Die Menge an freier schwefliger Säure kann jedoch besonders klein gehalten werden (10-15 mg/l). Bei Anwesenheit von schwefliger Säure wird die Wirksamkeit des Esters um 60 bis 70 Prozent erhöht. In praktischen Versuchen wurden Weine bis zu 10 hl durch Zerstäuben des Esters mittels Stickstoff behandelt. Mit der Membranpumpe können grosse Mengen Wein behandelt werden. Das Eindüsen erfolgt kontinuierlich. Bei beiden Verfahren löst sich der Ester echt im Wein auf.

Geringe Mengen Diäthylkarbonat, die nur gaschromatographisch erfasst werden könne, bilden sich bei der Hydrolyse von Pyrokohlensäurediäthylester im Wein. Jedoch ist die Frage noch nicht geklärt, ob auch von Natur aus Diäthylcarbonat im Wein vorkommt. Der Geschmack schwellenwert von Diäthylcarbonat in Wein liegt zwischen 30 und 60 mg/l. Diäthylcarbonat bildet sich beim Zerfall des Pyrokohlensäurediäthylesters in Abhängikeit vom Alkoholgehalt des Weines. Sind einem Wein von 10 Vol. % Alkohol 10 g/hl Pyrokohlensäurediäthylester zugesetzt worden, so entstehen max 6 mg/l Diäthylcarbonat. Erst die 5-fache Menge an Diäthylcarbonat ist daher geschmacklich feststellbar. Dies entspräche einem Zusatz von 50 g Pyrocarbonat/hl.

Die Behandlung mit Pyrokohlensäurediäthylester soll kurz vor der Flaschenfüllung und dem Verschliessen der Flasche durch den Kork erfolgen Zweckmässig sind die Flaschenkorken mittels schwefliger Säure zu sterilisieren.

IMPIEGO DEL PIROCARBONATO D'ETILE NEL TRATTAMENTO DEI VINI

K. HENNIG

RIASSUNTO

I vini dolci possono essere stabilizzati dal punto di vista biologico con 5-10 g/hl di pirocarbonato d'etile. L'impiego congiunto dell'acido solforoso è sempre consigliato per evitare gli intorbidamenti per sviluppo di lieviti. La proporzione d'acido solforoso libero puó tuttavia essere diminuita (10 à 15 mg/l). In presenza d'acido solforoso, l'efficacità del prodotto è aumentata del 60 a 70 %. In alcuni saggi pratici, sono stati trattati fino a 10 hl di vino per dispersione del pirocarbonato d'etile sotto pressione nella masse a mezzo d'azoto gassoso. Grandi quantità di vino possono essere trattate usufruendo di una pompa dosatrice a membrana. L'iniezione s'effectua in maniera continua. Con questi due metodi, il prodotto è effettivamente disciolto nel vino.

Nel corso d'ell'idrolisi nel vino, si formano quantità minime di carbonato d'etile, che possono essere solamente identificate per cromatografia in fase gassosa. Tuttavia non si sa ancora se del carbonato d'etile è normalement presente nel vino. Il carbonato d'etile nel vino comincia a essere percettibile al gusto in dosi comprese tra 30 e 60 mg per litro. Il carbonato d'etile si forma per idrolisi del pirocarbonato d'etile in relazione con il grado alcolico del vino. Se un vino di 10° d'alcole riceve 10 g di pirocarbonato d'etile per hl, si formano al massimo 6 mg di carbonato d'etile per litro. Solamento una quantità cinque volte più grande di carbonato d'etile, cui corrisponde una aggiunta di 50 g di pirocarbonato d'etile per hl, sarebbe svelabile al gusto.

Il trattamento con il pirocabonato d'etile deve essere effettuato poco tempo prima di mettere in bottiglia e di tappare. I tappi sono convenientemente sterilizzati con acido solforoso.

USO DEL PIROCARBONATO DE ETILO EN EL TRATAMIENTO DE LOS VINOS

K. HENNIG

RESUMEN

Los vino azucarados pueden ser estabilizados desde el punto de vista biológico con 5 a 10 g de pirocarbonato de etilo por Hl. El uso simultáneo del ácido sulfuroso se aconseja siempre para evitar enturbiamientos debidos al desarrollo de levaduras. Sin embargo, la proporción de ácido sulfuroso libre pued ser disminuida (10 à 15 mg por l). En presencia de ácido sulfuroso, la eficacia del producto se aumenta de 60 a 70 %. En pruebas prácticas, se han tratado cantidades de vino hasta de 10 hl con dispersión del pirocarbonato de etilo a presión en la masa, por medio de nitrógeno gaseoso. Por medio de una bomba dosificadora, de diafragma, se pueden tratar grandes cantidades de vino. La inyección se effectúa continuamente. Por estos dos procedimientos, el producto se disuelve efectivamente en el vino.

Durante la hidrólisis en el vino se forman cantidades minimas de carbonato de etilo, que sólo pueden ser identificadas por la cromatografia en fase gaseosa. Sin embargo todavia no se ha aclarado el hecho de saber si normalemente hay carbonato de etilo presente en el vino. El limite gustativo del carbonato de etilo en el vino se encuentra entre 30 y 60 mg por l. El carbonato de etilo se forma por hidrólisis del pirocarbonato de etilo, en relación con el grado alcohólico del vino. Si un vino de 10° de alcohol recibe 10 g de pirocarbonato de etilo por hl, se forman como máximo 6 mg de carbonato de etilo por l. Sólo una cantidad cinco veces mayor de carbonato de etilo, que requeriria una adición de 50 g de pirocarbonato de etilo por hl, seria identificable al gusto.

El tratamiento con el pirocarbonato de etilo debe ser efectuado poco tiempo antes del embotellado y del taponado. Es de utilidad esterilizar los tapones con ácido sulfuroso.

DISCUSSION

M. Garoglio (Florence, Italie) : Nous avons trouvé que le pyrocarbonate d'éthyle doit être absolument pur pour éviter le goût de carbonate d'éthyle. Nous avons effectué une vinification de raisins Muscat de Pantelleria en utilisant le pyrocarbonate d'éthyle et nous avons obtenu un arôme magnifique. Nous avons obtenu également de bons résultats en utilisant le pyrocarbonate d'éthyle à 10 ou 20 g par hl pour le mutage des moûts en diminuant les doses d'acide sulfureux habituelles.

Réponse : Pour des additions de 5 g de pyrocarbonate d'éthyle par hl nous n'avons observé aucune formation de carbonate d'éthyle. Ce dernier produit peut renforcer l'arôme de certains vins, comme par exemple le Gewürztraminer.

M. Prillinger (Klosterneuburg, Autriche) : Des quantités de 5 à 10 g de pyrocarbonate d'éthyle par hl, ajoutées par injection continue sous pression, peuvent protéger des refermentations les vins contenant du sucre, sans influence sur le goût. Suivant le type de vin, des quantités plus fortes peuvent être perceptibles. Du carbonate d'éthyle n'a pu être trouvé dans des vins non traités ; par conséquent une addition de pyrocarbonate d'éthyle faite à un vin est décelable qualitativement et quantitativement (par recherche du carbonate d'éthyle à l'aide de la chromatographie en phase gazeuse).

M. Procopio (Rome, Italie) fait une intervention sur un procédé de stabilisation totale des vins. « Il y a cent ans, Pasteur nous a appris à détruire les levures et autres germes par la chaleur, c'est-à-dire par chauffage du vin à 66 - 70 °C, ramené ensuite à la température ordinaire. De nos jours, la technique moderne permettrait de détruire les levures en les maintenant pendant une certaine période à pH élevé, ensuite de ramener le vin au pH initial au moyen de résines échangeuses d'ions. On réaliserait ainsi, à température ordinaire, la stabilisatiou biologique et physico-chimique du vin ».

INTERVENTION DE E. KIELHÖFER

Directeur de l'Institut de Recherches Œnologiques, Trèves (Allemagne)

Emploi du pyrocarbonate d'éthyle dans le traitement des vins

Nos recherches encore non publiées sur ce sujet concernent les questions suivantes :

1. Le pyrocarbonate d'éthyle ou encore son produit stable d'hydrolyse le carbonate d'éthyle sont-ils présents naturellement dans les vins tranquilles ou les vins mousseux, selon l'opinion des œnologues russes ? Nous avons pu montrer au moyen de recherches utilisant la chromatographie en phase gazeuse qu'aucune de ces deux substances n'existe ni dans les vins tranquilles, ni dans les vins mousseux. Avec le remplissage des colonnes que nous avons utilisées (cire d'abeille sur kieselgur), contrairement à ce qui se passe avec d'autres colonnes, les pics formés par le carbonate d'éthyle ne sont gênés ou effacés par aucun autre constituant du vin. De cette façon 0,1 mg de carbonate d'éthyle par litre peut être décelé.

Le pyrocarbonate d'éthyle est hydrolysé dans le vin en l'espace d'un petit nombre d'heures ; il se forme toujours comme produit secondaire de cette hydrolyse une petite quantité de carbonate d'éthyle à partir de l'alcool présent dans le vin. Nous avons étudié en détail la relation entre la quantité du carbonate d'éthyle formé et la quantité du pyrocarbonate d'éthyle hydrolysé, suivant le degré alcoolique et également suivant les autres facteurs. La limite de sensibilité dans ces recherches est de 5 mg de pyrocarbonate d'éthyle par litre dans le vin tranquille ou mousseux. Cette limite peut être abaissée à 1 mg par litre, quand par exemple on ajoute au vin mousseux aussitôt après l'ouverture de la bouteille suffisamment d'alcool pour porter la teneur à 50 %, et qu'on recherche après quelques jours, lorsque le pyrocarbonate d'éthyle éventuellement présent est complètement hydrolysé, combien il y a de carbonate d'éthyle formé dans cette solution alcoolique concentrée. Egalement dans ces conditions on n'a pas pu trouver de carbonate d'éthyle.

2. En se fondant sur la relation qui existe entre le carbonate d'éthyle et la quantité de pyrocarbonate d'éthyle et le degré alcoolique, on peut répondre à la question de savoir si un vin a reçu du pyrocarbonate d'éthyle dans un but de stabilisation biologique, et même on peut estimer la quantité ajoutée, avec une marge d'erreur qui n'excède pas 10 %, et cela encore longtemps après l'addition (deux ans).

3. Pour assurer la stabilisation biologique par emploi de pyrocarbonate d'éthyle, il est important de rechercher exactement la dose mortelle pour différentes levures. Pour compléter nos anciennes données à ce sujet ainsi que celles d'autres auteurs, nous avons trouvé qu'une souche *Z* de *Saccharomyces ellipsoideus* ayant une forte activité fermentaire, couramment utilisée dans la pratique pour l'achèvement de la fermentation et employée le plus souvent dans nos recherches de laboratoire, est déjà tuée par 15 mg de pyrocarbonate d'éthyle par litre (mais pas cependant par 10 mg par litre), dans un vin de 7°5 environ, avec 20 g de sucres réducteurs et 20 mg d'acide sulfureux libre

par litre et ensemencé par environ 300 000 cellules de levures par litre ; cette quantité est donc sensiblement inférieure à ce qui avait été indiqué jusqu'à maintenant.

Différents mélanges naturels de levures, que nous avons prélevés à partir des lies ou de levures en suspension de vins ayant fermenté spontanément, ont toujours été tués dans les mêmes conditions que précédemment par 25 mg de pyrocarbonate par litre.

Par contre, en accord avec l'observation de Van Zyl, *Saccharomyces acidifaciens* est un peu plus résistant. Cependant nous n'avons pas trouvé une différence aussi grande que l'indique cet auteur. Dans les mêmes conditions expérimentales nous avons trouvé pour deux souches de cette espèce une dose mortelle de 50 mg par litre, tandis que 40 mg n'étaient pas suffisants.

4. En outre nous avons recherché le temps nécessaire à la stérilisation, qui, à la différence des substances antiseptiques, est d'une grande importance pratique pour le pyrocarbonate d'éthyle qui devient très rapidement inefficace. Nous avons trouvé, assez en accord avec Ough et Ingraham, que 300 000 levures de la souche *Z* précédente, dans le même vin, étaient tuées aussi bien par 100 mg que par 25 mg par litre après 30 minutes de délai, mais pas après 10 minutes.

5. Finalement nous avons étudié encore la question, qui n'est pas la moins importante, de savoir si les levures devenaient avec le temps résistantes au pyrocarbonate d'éthyle. Ces recherches ne sont pas encore terminées.

INTERVENTION DE L GENEVOIS

Professeur à la Faculté des Sciences de Bordeaux (France)

Dosage du pyrocarbonate d'éthyle

GENEVOIS et LARROUQUÈRE ont indiqué (1) que le pyrocarbonate d'éthyle réagit rapidement à froid en milieu neutre avec une base aromatique, aniline, acide sulfanilique, parabromaniline :

(I) $BrC_6H_4NH_2 + C_2H_5CO_2—O—CO_2C_2H_5 = BrC_6H_4NHCO_2C_2H_5 + CO_2 + C_2H_5OH$

LARROUQUÈRE a récemment utilisé cette réaction (2) pour doser le pyrocarbonate d'éthyle même en milieu très étendu. On introduit dans le milieu amené à pH 7 un excès pas trop grand de la base aromatique ; l'excès de base aromatique est combiné par diazotation à un grand excès d'histamine, ce qui permet un dosage colorimétrique par comparaison avec un témoin. Cette réaction a permis de montrer que les aminoacides, même lorsqu'ils ont une fonction base (lysine, orinithine, arginine, histidine), ne réagissent pas en milieux aqueux, neutre ou acide, pas plus que les bases de la série grasse. Dans un autre travail, LARROUQUÈRE (3) a montré que les corps à fonction SH réagissent, en milieu neutre, très rapidement avec le pyrocarbonate d'éthyle. Il faut peut-être voir dans cette réaction le mécanisme de l'action toxique du pyrocarbonate d'éthyle vis-à-vis des levures et des bactéries.

(II) $R—SH + C_2H_5CO_2—O—CO_2C_2H_5 = R—S—CO_2C_2H_5 + CO_2 + C_2H_5OH$

Il faut noter qu'aucune des réactions étudiées ne se produit à pH 3. Par contre, la toxicité du pyrocarbonate d'éthyle pur sur l'organisme des êtres supérieurs est sans doute en relation avec des réactions du type (I) ou (II).

(1) L. GENEVOIS et J. LARROUQUÈRE. *Bull. Soc. Chim.*, 1962, p. 1531. (2) J. LARROUQUÈRE. *Ibidem*, 1963, p. 1022. (3) J. LARROUQUÈRE. *Ibidem*, 1963, à paraître.

INTERVENTION DE H. VALAIZE

Laboratoire œnologique et agricole de Béziers (France)

Sur l'emploi du pyrocarbonate d'éthyle en œnologie

En raison de son insolubilité dans l'eau et dans le vin, le pyrocarbonate d'éthyle est d'un emploi peu commode. Aussi avons-nous imaginé un tour de main qui permet de disperser le produit dans le vin d'une manière très simple.

Il suffit, au moment de l'emploi, de faire absorber la quantité nécessaire d'antiseptique par de la diatomite ou terre d'infusoires, dans la proportion de 3 grammes pour 7 grammes. On verse rapidement le liquide sur la diatomite, on malaxe et l'on introduit aussitôt le mélange dans le vin, au cours d'un simple remontage. La diatomite se dépose par la suite dans le fond du récipient ou est retenue sur le filtre.

Nous avons constaté que pendant la préparation du mélange, la perte de produit par évaporation était de l'ordre de 0,5 %. La diatomite renfermant toujours de 7 à 8 % d'eau, l'ester diéthylique de l'acide pyrocarbonique risque de s'hydrolyser rapidement ; c'est pourquoi nous pensons qu'il convient d'incorporer le mélange au vin, dans les 10 minutes qui suivent sa préparation. Dans ces conditions, l'incorporation du produit actif s'effectue d'une façon très satisfaisante.

Le pyrocarbonate d'éthyle exerçant une légère action irritante sur les yeux et sur les muqueuses, quand il s'agira de traiter des quantités de vin de l'ordre de 100 hectolitres et plus, ce qui nécessitera la mise en œuvre de plusieurs kg d'antiseptique, il sera prudent de préparer plusieurs mélanges avec 1 ou 2 kg à la fois seulement.

C'est en appliquant ce procédé d'absorption préalable que nous avons effectué quelques essais de laboratoire. Une première série d'essais a porté sur des vins blancs 10° + 2° qui ne renfermaient pas plus de 20 mg d'acide sulfureux libre, au moment du traitement et de la mise en bouteilles. Les échantillons N° 1 et I′ ont été traités à raison de 150 mg de pyrocarbonate par litre, et les échantillons N° 2 et II′ à raison de 200 mg par litre.

Les échantillons, logés dans des bouteilles neuves de 1/2 litre, bouchées à la main avec un bouchon de liège ont été placés debout dans une étuve à 28 °C. Il est bon de préciser qu'un espace vide de 1 cm subsistait dans le goulot de la bouteille entre la base du bouchon et la surface du vin.

Les résultats de nos analyses et de nos observations sont consignés dans le tableau suivant :

Vins blancs 10° + 2°

I. — Date du traitement : 12 décembre 1962

	SO_2 libre mg/l	Observations	SO_2 libre mg/l	Acidité volatile	Dégustation
Témoin	25	en fermentation le 14-12-62			
N° 1	25	en fermentation le 25-1-63			
N° 2	25	pas de fermentation le 25-5-63	5	0,30	mauvais goût

II. — Date du traitement : 18 janvier 1963

	SO_2 libre mg/l	Observations	SO_2 libre mg/l	Acidité volatile	Dégustation
Témoin	20	en fermentation le 25-1-63			
N° I′	20	pas de fermentation le 25-5-63	5	0,38	mauvais goût
N° II′	20	pas de fermentation le 25-5-63	7	0,33	mauvais goût

Une deuxième série d'essais a porté sur des vins rosés et des vins rouges secs de 9° à 10°, exactement dans les mêmes conditions que précédemment. Les échantillons N° 3 et III′ ont été traités à raison de 50 mg de pyrocarbonate par litre, et les échantillons N° 4 et IV′ à raison de 100 mg par litre.

Vins rosés et rouges secs

I. — Date du traitement : 8 février 1963

	SO_2 libre mg/l	Observations	Acidité volatile	Dégustation
Témoin rosé 10°	23	fleuri le 11-2-63		
N° 3	23	pas de fleur le 25-5-63	0,41	identique au témoin à l'origine
N° 4	23	pas de fleur le 25-5-63	0,41	jaunissement et madérisation
Témoin rouge 9°	20	fleuri le 11-2-63		
N° 3	20	pas de fleur le 25-5-63	0,22	identique au témoin à l'origine
N° 4	20	pas de fleur le 25-5-63	0,22	mauvais goût

II. — Date du traitement : 7 mars 1963

	SO_2 libre mg/l	Observations	Acidité volatile	Dégustation
Témoin rouge 9,5°	18	fleuri le 9-3-63		
N° III′	18	pas de fleur le 25-5-63	0,24	identique au témoin à l'origine
N° IV′	18	pas de fleur le 25-5-63	0,22	couleur tuilée odeur de vieux

Il ressort de ces expériences que le pyrocarbonate d'éthyle exerce une action antiseptique certaine contre les levures et contre *Candida mycoderma*, mais que ses effets sur les qualités organoleptiques des vins ne sont pas négligeables. Nous pensons que ce produit est susceptible d'applications intéressantes en œnologie, mais qu'une grande prudence s'impose avant de le mettre entre les mains du maître de chai.

STABILISATION BIOLOGIQUE DES VINS PAR CHAUFFAGE

P. SUDRAUD

Station Agronomique et Œnologique de Bordeaux (France)

Historique

Le vin étant un milieu biologique dans lequel peuvent se dérouler des réactions enzymatiques, ou se développer divers microorganismes tels que levures et bactéries, un des procédés de stabilisation biologique les plus anciens consiste à détruire ces « ferments solubles et organisés » par le chauffage.

Un bref historique de ce traitement va nous montrer l'évolution de ce procédé depuis environ un siècle.

C'est Appert qui le premier a signalé la possibilité de conserver le vin par l'application de la chaleur, mais en réalité c'est Pasteur qui peut revendiquer le mérite d'avoir prouvé la vertu très réelle de la méthode d'Appert appliquée au vin. En effet dans ses « Etudes sur le Vin », Pasteur (1) montra que le chauffage des vins, au bain-marie à 60 °C environ, ne serait-ce qu'une minute, suffit à tuer les « ferments de maladie », suivant son expression, et à protéger les vins d'une manière certaine contre toute altération ultérieure, tout en n'apportant aucune modification de la couleur, de la limpidité, de la saveur et du bouquet. Quarante ans plus tard, à la fin du siècle dernier, Gayon et Laborde (2) ont étudié longuement les effets de la pasteurisation sur les vins du Bordelais. Ces expériences ont montré que la température de 55 °C n'est pas toujours suffisante, alors qu'un chauffage à 60 °C assure une bonne stérilisation. Des essais plus récents ont établi qu'un chauffage à 45 °C permettait d'obtenir un arrêt de la fermentation alcoolique ce qui pouvait permettre d'assurer la stabilisation des vins blancs liquoreux (3). Cette observation a été appliquée récemment par Baillot d'Estivaux (4) dans l'embouteillage à chaud, les températures d'embouteillage variant en fonction du degré alcoolique du vin. De même à la même époque que les travaux de Gayon on trouve des observations concernant la destruction des enzymes des vins, l'oxydase en particulier, par chauffage à une température assez élevée.

De ce bref historique nous pouvons retenir qu'initialement la pasteurisation était un traitement contre les maladies microbiennes causées par les bactéries acétiques et les bactéries de « la graisse » et de « l'amertume », pour employer les expressions en cours à l'époque de Pasteur, alors que par la suite le chauffage est devenu un traitement de stabilisation enzymatique et surtout antifongique pour la conservation des vins liquoreux.

Après ce court rappel historique, nous étudierons la théorie de l'action de la

chaleur sur les vins, puis les applications pratiques du chauffage, enfin, brièvement, la législation concernant ce procédé de stabilisation.

Théorie de l'action stérilisante de la chaleur

Les nombreux ouvrages de microbiologie traitant des levures et des bactéries fournissent assez peu de données sur les températures de destruction de ces micro-organismes : nous envisagerons successivement le cas des levures, des bactéries, puis des enzymes.

Température de destruction des levures. — Pasteur avait déjà constaté que le fait de porter la levure « haute » de bière à une température de 50 °C tuait les cellules. A la fin du siècle dernier, Kayser (5) indiquait qu'en milieu humide les cellules végétatives de *Saccharomyces cerevisiae*, variété *ellipsoideus*, sont détruites par un chauffage de cinq minutes à 54-56 °C alors que les spores des mêmes levures résistent le plus souvent à une température de 62 °C, mais sont détruites à 65 °C ; le même auteur a constaté que des cellules végétatives plus vieilles résistaient pendant 5 minutes à une température de 60 °C.

Plus récemment, de nombreuses études plus complètes ont montré l'influence de la température sur la croissance et la destruction des levures. C'est ainsi que l'on peut distinguer d'une part la température maximale supportée par les levures au cours de leur croissance ou « température limite de croissance » et d'autre part les points de destruction thermique des levures : ces deux températures ne coïncident pas, la température limite de la croissance et de la multiplication, température au delà de laquelle les cellules ne se développent plus, sans être tuées, est d'environ 10 °C inférieure au point de destruction thermique. Cela revient à dire que les températures de destruction des enzymes entraînant la destruction des cellules de levures sont beaucoup plus élevées que les températures de désorganisation cellulaire (empêchant la croissance et la multiplication des levures). C'est ainsi que selon Cook (6), les températures limites de croissance varient selon les espèces de levures entre 30 et 47 °C, comme l'indique le tableau ci-dessous :

Limite des températures de croissance des levures (°C)	
Saccharomyces carlsbergensis	33,5
Saccharomyces cerevisiae var. *ellipsoideus*	40-41
Saccharomyces marxianus	46-47
Hansenula suaveolens	30-35
Torulopsis candida	32
Kloeckera apiculata	35

Les points de destruction thermique, c'est-à-dire la température à laquelle les microorganismes doivent être portés pendant dix minutes pour être détruits, sont variables d'une part avec l'espèce des levures, d'autre part avec la nature des cellules (cellules végétatives ou spores). Pour les cellules végétatives des diverses levures étudiées, les points de destruction thermique sont compris entre 50 et 60 °C (7). Pour les spores, il faut pour obtenir leur destruction complète soit une température plus élevée soit un séjour plus long à une température déterminée. Nous reproduisons ci-dessous, sous forme de tableau, quelques données relatives à diverses espèces de levures, qui montrent l'influence de la température et de la durée du séjour à cette température.

Quelques essais personnels nous ont montré qu'un chauffage de 5 minutes à 55 °C détruisait complètement les souches de *Saccharomyces oviformis*, *Saccharomyces acidifaciens* et *Saccharomycodes ludwigii* introduites dans un vin blanc renfer-

mant 10° d'alcool et 30 g environ de sucres par litre et ne contenant pas d'acide sulfureux libre.

Points de destruction thermique

	Cellules végétatives		Spores	
	Température (°C)	Durée (en minutes)	Température (°C)	Durée (en minutes)
Saccharomyces cerevisiae var. *ellipsoideus*	60	5	60	15
	55	10	55	20
	50	15	50	> 35
	48	25		
	43	2 880		
Saccharomyces odessa	52	20	64	20
Divers *Saccharomyces*	60	5	60	15

En dehors de l'espèce et de la nature de la cellule, la sensibilité des levures à la température dépend d'autres facteurs, tels que la teneur en eau, la température préalable de culture, l'âge de la cellule ; une certaine teneur en sucre ou en sels les protège, alors qu'une teneur trop élevée les rend plus sensibles ; le pH du milieu exercerait une faible influence.

Enfin une expérience rapportée par WHITE (8) montre le comportement différent de certaines cellules de levures vis-à-vis de la température. Une culture comptant 5×10^5 cellules vivantes par mm^3 est portée à la température de 55 °C ; après 4 minutes il reste 164 cellules vivantes et après 6 minutes il en reste 24. Les raisons pour lesquelles certaines cellules sont résistantes et d'autres sensibles à la température ne sont pas connues, mais même les cellules résistantes semblent être modifiées car la transposition de ces cellules chauffées dans un nouveau milieu nutritif à température normale occasionne une période de latence beaucoup plus longue que pour les cellules non traitées.

Température de destruction des bactéries. — Les bactéries se classent en trois groupes principaux suivant leur degré de résistance à la température (9) :

— bactéries psychrophiles, pour lesquelles la température limite de croissance est de 30 °C ;

— bactéries thermophiles pour lesquelles la température limite de croissance atteint et dépasse 80 °C ;

— bactéries mésophiles qui groupent la majeure partie des bactéries et en particulier celles que l'on trouve dans le vin, pour lesquelles la température limite de croissance est de 40 à 45 °C selon les espèces.

Mais le point de destruction thermique ou « température mortelle » est généralement plus élevé : pour les pneumocoques, il se situerait à environ 52 °C. Pour les bactéries du vin cette « température mortelle » est généralement supérieure à 55 °C : c'est ainsi que pour les bactéries acétiques, cette température est comprise entre 55 et 60 °C et les bactéries lactiques sont détruites à des températures comprises entre 62° et 70 °C. Cependant ces températures ne suffisent pas toujours à détruire entièrement et complètement toutes les bactéries d'un milieu. Une expérience d'EIJKMANN de 1908 rapportée par JORGENSEN (10) est très instructive ; cette expérience a porté

sur *Bacterium coli* chauffé à 52 °C ; le tableau ci-dessous indique en fonction du temps de chauffage le nombre de colonies vivantes après 3 jours ou 15 jours de culture sur boîtes de Pétri.

Durée de chauffage	Nombre de colonies	
	Après 3 jours	Après 15 jours
0	336 000 000	336 000 000
30 secondes	144 000 000	144 000 000
1 minute	115 200 000	128 800 000
2 minutes	51 200 000	65 000 000
3 minutes	4 000 000	33 600 000
5 minutes	800 000	2 720 000
6 minutes	0	640 000
10 minutes	0	3 750
15 minutes	0	1 000
35 minutes	0	0

D'après ce tableau on constate que :

— 50 % des bactéries ont été tuées en moins de 30 secondes, mais leur destruction totale exige un chauffage de 35 minutes.

— Parmi les cellules de bactéries restées vivantes, certaines sont à reproduction très lente.

Cette expérience est comparable à celle de WHITE citée plus haut pour les levures.

Enfin indépendamment de l'espèce de bactéries la sensibilité de ces microorganismes à la température dépend d'autres facteurs tels que la concentration en ions hydrogène et l'alcool en particulier. Dans les vins rouges de pH 3,3 et d'un degré alcoolique de 11°, un chauffage à 45 °C empêcherait à la fois le développement du *Mycoderma aceti* et des bactéries malolactiques.

Température de destruction des diastases. — La stabilisation enzymatique du vin est souvent très importante à obtenir pour assurer la limpidité de certains types de vin. Or on sait que les actions diastasiques sont très fortement influencées par la température : elles sont généralement maximales vers 45-50 °C, puis diminuent jusqu'à devenir nulles vers 80 °C, température à laquelle la diastase est complètement détruite. Les données précises concernant les diastases pouvant se trouver dans les vins (par exemple polyphénoloxydases) sont assez rares, mais on peut affirmer qu'il faut atteindre une température égale ou supérieure à 75 °C pour détruire entièrement toutes les enzymes. Dans ce cas, il semble bien que des chauffages très courts soient suffisants à condition que le vin soit porté à une température assez élevée, comme l'ont montré certains chercheurs italiens (11).

APPLICATION AUX VINS

Les données que nous venons d'exposer sont valables dans certains milieux de culture, or dans le vin on se trouve placé dans des conditions bien définies de degré alcoolique, de pH, de teneurs en acide sulfureux libre, qui ont une influence notable sur la température de destruction des divers microorganismes.

L'alcool du vin possède une action antiseptique non négligeable sur le développement des levures ; même à des degrés voisins de 10° son action renforce l'action de la température ; c'est ainsi que BAILLOT D'ESTIVAUX a constaté que si la température nécessaire pour empêcher le développement des levures est de 47 °C pour un vin de 9°, elle n'est plus que de 43 °C pour un vin de 10°.

Le pH du vin, généralement inférieur à 3,5, limite également le développement des bactéries et exerce une légère influence sur la température de destruction des levures.

L'acide sulfureux qui dans les vins agit comme antiseptique uniquement grâce à la fraction libre influence fortement la destruction des microorganismes par la température. En effet la quantité d'acide sulfureux libre est d'autant plus grande que la température est plus élevée et son pouvoir antiseptique est d'autant plus élevé que le pH du vin est plus bas (acide sulfureux « actif ») : le tableau ci-dessous indiqué par VEDEL (12) est significatif (il se rapporte à un jus de raisin).

Température	SO_2 libre (mg par litre)
15 °C	25
50 °C	56
55 °C	64
60 °C	70

Il est certain que cette dissociation de l'acide sulfureux combiné sous l'action de la température augmente sensiblement l'efficacité d'un traitement thermique.

Enfin les composés phénoliques posséderaient une action antiseptique légère vis-à-vis des levures et des bactéries, action amplifiée par l'augmentation de la température.

Nous voyons donc que pour assurer la stabilité biologique d'un vin par un traitement thermique, il suffit de se placer dans des conditions de température telles que, compte tenu de la teneur du vin en alcool et en acide sulfureux libre et de son pH, tous les microorganismes soient ou bien détruits ou bien dans l'impossibilité de se développer. Pour la stabilisation diastasique, des températures plus élevées sont souvent nécessaires bien que les traitements à l'acide sulfureux soient généralement suffisants pour détruire certaines diastases.

Pratique des traitements thermiques. — Tenant compte des données théoriques, il existe plusieurs types de stabilisation biologique des vins par le chauffage, différant soit par la température à laquelle le liquide est porté pendant un temps plus ou moins long, soit par le moment où est effectué le traitement, dans la masse du vin ou en bouteille. On peut distinguer trois principaux types de traitements :

— pasteurisation ou flash-pasteurisation du vin en « vrac » (c'est-à-dire non logé en bouteilles) ;
— pasteurisation en bouteilles ;
— embouteillage à chaud.

Pasteurisation du vin en « vrac ». — Ce traitement est effectué très rarement de nos jours, car il existe divers procédés chimiques qui joints aux soins traditionnels permettent d'éviter les développements des microorganismes dans le vin. D'autre part il demande une stérilisation des récipients de réception du vin traité, car le chauffage détruit les microorganismes se trouvant dans le vin, mais n'empêche pas une contamination ultérieure. Ce traitement peut s'effectuer de deux façons :

1° Pasteurisation ordinaire, c'est-à-dire chauffage du vin à une température de l'ordre de 60 à 65 °C, soit par passage dans des serpentins plongeant dans un bain-marie, soit par échangeurs de température, puis séjour du vin à la température de pasteurisation pendant dix minutes environ et enfin refroidissement du vin par circulation à contre courant du liquide chaud sortant de l'appareil et du liquide froid à traiter.

2° Flash-pasteurisation ou pasteurisation-éclair, c'est-à-dire chauffage du vin pendant quelques secondes à haute température (généralement 20 secondes à 88 °C), suivi d'un refroidissement rapide, grâce à des échangeurs à plaques comprenant trois circuits correspondant au vin et aux deux vecteurs thermiques, la vapeur et l'eau ou la saumure de refroidissement ; ce mode de traitement a l'avantage de détruire les enzymes.

Pasteurisation en bouteilles. — Afin d'éviter les risques de contamination des vins par les microorganismes se trouvant dans les récipients, il a semblé plus simple de pasteuriser en une seule fois le contenu et le contenant en effectuant une pasteurisation du vin en bouteilles. C'était la méthode de PASTEUR. Ce mode de traitement a été étudié en détail pour la bière et pour les cidres doux, mais assez peu pour le vin.

Grâce à des études de laboratoire, on a pu établir une courbe d'efficacité biologique de la pasteurisation de la bière (DEL VECCHIO) ; cette courbe montre que toute élévation de température de 7 °C diminue 10 fois le temps d'action de la chaleur et inversement ; cette courbe a également permis de définir l'unité de pasteurisation qui est « l'effet de pasteurisation » ou la « destruction biologique » obtenue dans la bière par une minute de maintien à la température de 60 °C. La courbe expérimentale permet de calculer pour chaque température la vitesse de destruction biologique ; on peut facilement en déduire l'effet de pasteurisation exprimé en unités de pasteurisation, en multipliant cette vitesse de destruction biologique par le temps d'application à une température déterminée. L'expérience a démontré qu'en pratique 25 à 30 unités de pasteurisation suffisent pour assurer une stabilité biologique complète à la bière européenne. Aux Etats-Unis des statistiques de 1955 donnent une valeur moyenne de 13,7 unités de pasteurisation. Etant donné la différence existant dans la composition de la bière et celle du vin (en particulier degré alcoolique et teneur en acide sulfureux libre plus élevés, pH plus bas), il est vraisemblable que des valeurs de l'ordre de 5 unités de pasteurisation seraient suffisantes pour assurer une stabilité biologique du vin, soit un maintien à 60 °C pendant 5 minutes. Il est bien entendu que ces températures sont les températures relevées « au noyau » de la bouteille à environ 25 mm du fond, zone qui met le plus longtemps à atteindre la température de pasteurisation.

Il est certain que l'application de ces données permettrait une économie de calories appréciable dans les installations de pasteurisation en bouteilles.

Embouteillage à chaud. — Ce procédé utilisé déjà depuis longtemps pour les jus de fruits (13) consiste à chauffer le vin à 45-50 °C (selon la richesse alcoolique) et à le mettre en bouteille à cette température, en laissant refroidir spontanément (14) ; on a ainsi une action due à la chaleur et à un séjour plus ou moins long à des températures supérieures aux températures limites de croissance des divers microorganismes. Selon RIVELLA (15) les températures minimales à atteindre sont de 50 °C pour les vins secs et 55-60 °C pour les vins liquoreux italiens. Ce traitement nécessite un appareillage simple consistant en une source de chaleur fournissant la vapeur (généralement chaudière à mazout) et un échangeur de température à plaques dans lequel circule à contre courant la vapeur et le vin à traiter ; l'ensemble peut s'adap-

ter aux divers groupes d'embouteillage. Des expérimentateurs français et étrangers (16) ont vérifié l'efficacité de ce traitement vis-à-vis de la stabilité biologique des vins ainsi traités.

Il est bien entendu que ce traitement ne doit s'appliquer qu'à des vins stabilisés vis-à-vis des troubles colloïdaux pouvant se produire par chauffage et en particulier des casses cuivrique et protéique ; d'autre part le vin doit être le plus possible privé d'oxygène et les bouteilles doivent être remplies au maximum pour éviter une oxydation en cours de traitement ou pendant la conservation, oxydation préjudiciable aux qualités organoleptiques du vin traité, surtout dans le cas des vins blancs secs.

Avantages et inconvénients des divers modes de traitement. — Sans vouloir effectuer un classement des trois modes de traitement que nous venons d'exposer, nous essayerons de façon objective d'indiquer les avantages et les inconvénients de chacun.

La pasteurisation en « vrac », tout comme le flash-pasteurisation, très utilisée dans le jus de raisin, est aujourd'hui peu utilisée pour le traitement des vins, car elle nécessite des précautions spéciales pour aseptiser les récipients de réception des vins traités, et les procédés chimiques de stabilisation biologique ont permis de limiter au maximum la quantité des vins malades ou instables ; ce n'est que dans des cas particuliers que l'on utilise, de nos jours, ce traitement qui a connu une grande extension à la fin du siècle dernier et au début de celui-ci.

La pasteurisation en bouteilles, très utilisée pour la bière, n'est pratiquement pas employée pour les vins, car elle nécessite des appareils coûteux et a l'inconvénient de laisser un vide appréciable dans les bouteilles.

L'embouteillage à chaud a pris actuellement de l'importance, surtout pour les vins de qualité moyenne, car c'est le procédé de stabilisation par la chaleur le moins onéreux qui, sans réaliser une stérilisation complète du vin, permet d'obtenir une inactivation suffisante des microorganismes par un chauffage modéré ; il est cependant nécessaire de prendre certaines dispositions consistant en des traitements de préparation des vins à embouteiller afin d'éviter les précipitations colloïdales en bouteilles et les effets néfastes d'oxydation sur les caractères organoleptiques des vins ainsi traités.

Réglementation

Dans la presque totalité des pays les traitements des vins par le chauffage sont autorisés (17) ; cependant certains pays dont la France, utilisent pour désigner ces traitements le terme de pasteurisation ou de flash-pasteurisation. Il semble bien que la dénomination la plus correcte soit actuellement le mot « chauffage » ou « traitement thermique », car les autres termes indiquent plutôt un des buts du traitement que le traitement lui-même et devraient être précisés en ce qui concerne les températures à atteindre et la durée du séjour à ces températures, comme c'est par exemple le cas dans la réglementation française de la pasteurisation du lait.

C'est à juste titre que ce traitement des vins par le chauffage est autorisé, car s'il a l'inconvénient d'être parfois un peu brutal pour certains vins fins, il a l'avantage de n'introduire aucune substance étrangère au vin et de ne pas modifier sensiblement les caractéristiques chimiques et organoleptiques du produit.

Dans ce bref exposé, nous avons essayé d'analyser les bases théoriques de l'action d'une température un peu élevée sur les levures, bactéries et enzymes du vin, puis d'exposer le plus objectivement possible les divers modes de traitement utilisés pour l'application de ce procédé de stabilisation aux vins.

Références bibliographiques

(1) L. Pasteur. *Etudes sur le vin*, 2e édition, p. 197. (2) U. Gayon. *Rev. Vitic.*, 1895, **3**, 585. (3) S. Lafourcade. *Ind. Agric. Alim.*, 1954, **71**, 15. (4) L. Baillot d'Estivaux. *C.R. Acad. Agric.*, 1958, **44**, 342. (5) E. Kayser. Action de la chaleur sur les levures. *Ann. Inst. Pasteur*, tome III, 1889 (6) A.H. Cook. *The chemistry and Biology of Yeasts*, New York, 1958. (7) A. Lund. *Proc. E.B.C. Congr. Brighton*, 1951. (8) J. White. *J. Inst. Brewing*, 1953, **59**, 470. (9) C.E. Clifton. *Introduction to the bacteria*, 1950. (10) A. Jorgensen. *Mikroorganismen der Garüngsindustrie*, 1956, 112.

(11) A. Bertuzzi. *Rivista Vitic. Enol.*, 1953, **6**, 41 ; 1957, **10**, 45. (12) J. Vedel. *La Journée Vinicole*, 16 février 1962. (13) H. Gachot. *Manuel des jus de fruits*. Heitz Strasbourg, 1955, p. 211. (14) L. Baillot d'Estivaux. *C.R. Acad. Agric.*, 1962, **60**. (15) E. Rivella. *Conegliano Veneto*, juillet 1961. (16) E. Gervasi. *Revue de l'embouteillage*, 1962, **60**. (17) Traitements et produits dont l'usage dans l'élaboration des vins est considéré comme licite ou illicite, *Bull. OIV*, juin-juillet 1961.

Résumé

Après un bref historique du traitement des vins par le chauffage nous donnons quelques bases théoriques concernant la résistance à la température des divers microorganismes des vins, levures et bactéries, ainsi que des enzymes. La différence entre la température maximum de croissance des microorganismes, température au-delà de laquelle la croissance et la multiplication des cellules sont empêchées, et les points de destruction thermique, températures au-delà desquelles les cellules sont détruites, permet de constater que selon les buts à atteindre on peut effectuer des chauffages à températures plus ou moins élevées en tenant compte bien entendu de la composition du vin (degré alcoolique, pH et teneur en acide sulfureux libre). La température maximum de croissance, semblable pour les cellules végétatives des levures et pour les bactéries, est voisine de 45 à 50 °C (elle est plus élevée pour les spores), alors que la « température mortelle » pour ces mêmes microorganismes est de l'ordre de 55 à 60 °C. Pour la destruction complète des enzymes, il faut atteindre des températures plus élevées généralement supérieures à 75 °C.

L'application pratique de ces résultats aux vins peut s'effectuer de plusieurs façons : pasteurisation du vin en vrac ou en bouteilles, assurant une bonne stabilisation levurienne et bactérienne, flash-pasteurisation assurant en plus une destruction des enzymes ; embouteillage à chaud assurant par inactivation des levures et des bactéries une stabilisation satisfaisante.

La stabilisation biologique thermique des vins est un procédé autorisé dans la plupart des pays sous différentes dénominations ; la plus correcte semble être le chauffage.

BIOLOGICAL STABILIZATION OF WINE BY HEATING

P. SUDRAUD

Summary

After a short exposé on wine treatment by means of heating, we give a few theoretical basic principles with regard to the resistance to temperature of the various microorganisms yeast, bacteria, and also enzymes found in wine. The difference between the maximum growth temperature of the microorganisms, above which the growth and reproduction of cells cease, and the thermal death points, temperature above which cells are killed, enables us to note that, according to the objects in view, one can carry out heatings at more or less high temperature taking into account of course the wine composition (alcohol concentration, pH and free sulfur dioxide content). The maximum growth temperature, which is the same for the vegetative cells of yeasts and for bacteria, is near 45 to 50 °C (it is higher with respect to the spores), whilst the « death point » for the same microorganisms ranges from 55 to 60 °C. High temperatures (generally above 75 °C) are necessary for the complete destruction of enzymes.

There can be several ways of putting those results into practice : pasteurization of wine in bulk or in bottle, which ensures a good yeast and bacterial stabilization ; flash-pasteurization, making in addition the destruction of enzymes sure ; bottling of wine in a heated state which ensures a satisfactory stabilization by inactivation of yeasts and bacteria.

The thermal biological stabilization of wine is a process approved in most countries but under various names.

BIOLOGISCHE STABILISIERUNG DER WEINE DURCH ERHITZEN

P. SUDRAUD

Zusammenfassung

Nach einer kurzen geschichtlichen Abhandlung über die Hitzebehandlung der Weine werden einige theoretische Grundlagen über die Widerstandsfähigkeit verschiedener Mikroorganismen, Hefen, Bakterien und Enzymen gegenüber höheren Temperaturen gegeben. Aus der Differenz zwischen der für das Wachstum der Mikroorganismen günstigsten Maximaltemperatur, bei deren Überschreitung das Wachstum und die Vermehrung der Zellen beeinträchtigt wird, und jenen Temperaturen, bei denen eine Abtötung der Zellen erfolgt, kann man die Erhitzung je nach den

gesteckten Zielen verändern. Dabei spielt die Zusammensetzung des Weines (Alkoholgrad, pH-Wert und freie schwefelige Säure) eine beachtliche Rolle. Die maximale Wachstumstemperatur ist für Hefen und Bakterien ähnlich und beträgt 45 - 50 °C. Für Sporen liegt sie höher. Die Abtötungstemperatur liegt bei diesen Organismen bei 55 - 60 °C. Um eine vollständige Zerstörung der Enzyme zu erreichen, sind Temperaturen von über 75 °C erforderlich.

In der Praxis lassen sich diese Erkenntnisse auf verschiedene Arten ausnützen : Die Pasteurisation des Weines im Fass oder in der Flasche bietet eine gute Stabilisierung gegen Hefen und Bakterien. Die « Flash-Pasteurisation » bewirkt ausserdem noch eine Inaktivierung der Hefe.

Das Warmabfüllen in Flaschen gewährleistet eine zufriedenstellende Stabilisierung. Die biologisch-thermische Stabilisierung der Weine ist in den meisten Ländern ein unter verschiedenen Bezeichnungen anerkanntes Verfahren.

STABILIZZAZIONE BIOLOGICA DEI VINI A MEZZO DEL CALORE

P. SUDRAUD

Riassunto

Dopo un breve cenno storico sul trattamento dei vini per mezzo del calore si danno alcune basi teoriche concernenti la resistenza alla temperatura dei diversi microrganismi dei vini, lieviti e batteri, ed anche degli enzimi. La differenza tra la temperature massima di accrescimento dei microrganismi (temperatura al di là della quale l'accrescimento e la moltiplicazione delle cellule sono impediti), ed i punti di distruzione termica (temperature al di là delle qual le cellule sono distrutte) permette di constatare che secondo il fine da raggiungere si possono effettuare dei riscaldamenti a temperature più o meno elevate, tenendo conto, ben inteso, della composizione del vino (grado alcoolico, pH e tenore in acido solforoso libero). La temperatura massima di accrescimento, simile per le cellule vegetative dei lieviti e per i batteri, è vicina a 45 - 50 °C (è più elevata per le spore), mentre la « temperatura mortale » per questi stessi microrganismi è dell'ordine di 55 - 60 °C. Per la distruzione completa degli enzimi bisogna raggiungere temperature più elevate, generalmente superiori a 75 °C.

L'applicazione pratica, di questi risultati, ai vini puó effettuarsi in diversi modi : pastorizzazione del vino in massa o in bottiglia, che assicura una buona stabilizzazione biologica ; pastorizzazione lampo che assicura in più la distruzione degli enzimi ; imbottigliamento a caldo che assicura, per inattivazione dei lieviti e dei batteri, una stabilizzazione soddisfacente.

La stabilizzazione biologica, per mezzo del calore, dei vini, è un procedimento autorizzato nella maggior parte dei paesi, sotto diverse dénominazioni.

ESTABILIZACIÓN BIOLÓGICA DE LOS VINOS POR CALENTAMIENTO

P. SUDRAUD

Resumen

Después de una breve historia del tratamiento de los vinos por calentamiento, damos algunas bases téoricas referentes a la resistencia a la temperatura de los diferentes microorganismos de los vinos, levaduras y bacterias, asi como de las enzimas. La diferencia entre la temperatura máxima de crecimiento de los microorganismos, a partir de la cual el crecimiento y la multiplicación de las células son impedidos, y los puntos de destrucción termica, temperaturas a partir de las cuales las células son destruidas, permite comprobar que segun los objetivos que se quieran alcanzar, se pueden efectuar calentamientos a temperaturas más o menos elevadas, teniendo en cuenta desde luego la composicion del vino (grado alcoholico, pH y contenido de ácido sulfuroso libre). La temperatura máxima de crecimiento, parecida para las células vegetativas de levaduras y para las bacterias, es cercana a 45 o 50 °C (es más alta para las esporas), mientras que la « temperatura mortal » para estos mismos microorganismos, es del orden de 55 à 60 °C. Para la destrucción completa de las enzimas hay que alcanzar temperaturas más elevadas, generalmente superiores a 75 °C.

La aplicacion práctica de estos resultados a los vinos, puede efectuarse de varias maneras : pasterizacion del vino en masa o en botella, asegurando una buena estabilización en cuanto a levaduras y bacterias ; flash pasterización, que asegura además una destrucción de las enzimas ; embotellado en caliente, que asegura, por inactivación de las levaduras y de las bacterias una estabilización satisfactoria.

La estabilización biológica térmica de los vinos es un procedimiento autorizado en la mayoria de los paises, bajo diferentes denominaciones.

INTERVENTION DE L. BAILLOT D'ESTIVAUX

Ingénieur-chimiste E.N.S.C.B., Bordeaux (France)

Stabilisation biologique des vins par chauffage

La stabilisation biologique des vins par chauffage, si objectivement traitée par M. SUDRAUD, est un sujet à la fois très simple et très vaste, qui procède en ligne directe des études de PASTEUR qui en a ouvert la voie. Deux courants se sont alors formés dans la pratique : le chauffage des vins « en vrac », qui stoppe l'évolution des maladies microbiennes du vin, mais qui, ne garantissant pas sa stabilisation dans le temps, pourrait être dénommé fausse pasteurisation, et le chauffage des vins en récipients fermés qui constitue la seule vraie stabilisation biologique voulue par PASTEUR.

Sur la première cependant, nous ferons une réserve concernant le chauffage en vrac des vins doux naturels ou des vins de liqueurs, qui sont très souvent le siège de prolifération microbienne et en particulier de la tourne. En effet, il m'a été donné de vérifier, et avant moi : GAYON, LABORDE, DUBAQUIÉ, qu'il était pratiquement impossible de réensemencer des vins faits avec des cultures du microbe de la tourne. On peut donc supposer que ce microbe ne peut se développer qu'à partir du moût dont il est originaire, s'adaptant à l'alcool au fur et à mesure de sa formation ou de son addition ultérieure, puisque des proliférations intenses de la tourne ont été constatées dans des vins de liqueur titrant 18° d'alcool. Cela est valable pour la fermentation malolactique qu'il est très difficile, pour ne pas dire impossible, de faire repartir par simple réensemencement dans le vin fait. Fort de ces observations, et pour ces fermentations microbiennes seulement, on doit pouvoir attendre de la pasteurisation en vrac d'excellents résultats sans trop s'inquiéter d'un réensemencement ultérieur du vin par ces bactéries. Des expériences actuellement en cours nous permettront d'y apporter ou non, la consécration de la pratique.

Si le chauffage des vins en vrac peut réaliser un secours d'urgence pour arrêter certains développements microbiens, il n'en est pas de même de l'embouteillage à chaud, dernier stade de traitement du vin avant sa consommation, qui lui apporte une stabilisation biologique totale et définitive. Ayant été à l'origine de cette pratique, nous pouvons apporter aujourd'hui la confirmation de six années d'expérience portant sur des centaines et des centaines de millions de bouteilles de vins les plus divers embouteillés à chaud selon le procédé que nous avons nommé « Thermolisation », afin d'établir un distinguo avec la pasteurisation classique dont il découle.

En résumé, le vin prêt pour la mise en bouteille est porté, grâce à un appareillage approprié, à une température réglée entre 47 et 49 °C, puis embouteillé directement et bouché aussitôt.

Le refroidissement lent des bouteilles à la température ambiante fait ainsi intervenir le facteur temps ou durée d'action de la température sur le vin, facteur essentiel de stabilisation ainsi que nous l'avons démontré. Ce procédé qui ne change absolument rien aux méthodes habituelles d'embouteillage ni à la rapidité du tirage s'est finalement révélé le plus sûr et le plus économique.

De plus, le Professeur MASQUELIER a vérifié que les substances phénoliques, les leucoanthocyannes, ne sont pas touchées par un chauffage effectué dans les conditions précitées. Cela est très important en raison de l'apport régulier et abondant de facteurs vitaminiques P que le vin réalise dans notre alimentation quotidienne.

Au cours de cette opération cependant, les levures et les microorganismes ont été complètement annihilés puisque les bouteilles mises en vidange n'ont présenté après plusieurs mois aucun trouble d'ordre biologique quelconque, alors même que l'acide sulfureux avait complètement disparu ou n'existait pas à l'origine. En un mot, les résultats à l'échelle industrielle confirment en tous points les essais de laboratoire faits sur cette question si importante de la conservation du vin.

On a souvent épilogué sur les diverses sources de chaleur ou de rayonnement destinées à assurer la stabilisation biologique du vin. A ce sujet, nous avons fait des expériences précises en faisant intervenir soit les radiations solaires, soit celles de lampes à infra-rouges, soit tout simplement la chaleur du bain-marie. Or, chaque fois que la température de vins exposés au soleil du plein été ou au rayonnement infra-rouge ne dépassait pas 30 °C, par suite du maintien de cette température à l'aide d'un réfrigérant disposé dans le récipient, on ne constatait aucun retard à la fermentation par rapport aux témoins. Par contre, les échantillons ayant subi une exposition semblable et dont la température atteignait 45 °C se trouvaient stabilisés, au même titre d'ailleurs que ceux portés à la même température au bain-marie. On peut en conclure que le rayonnement seul n'a eu aucune efficacité pour stabiliser le vin vis-à-vis de la fermentation alcoolique. Seule la chaleur intervient quelle qu'en soit la source.

A côté de l'action biologique de la température sur les vins, et pour terminer, rappelons qu'en dissolvant les micro-cristaux de tartres, elle retarde la formation des dépôts et que les vins en puissance de casse ferrique n'y sont plus sujets après avoir été soumis à des températures allant de 50° à 85 °C, selon l'intensité du trouble, celui-ci se dissolvant d'ailleurs dans le vin par élévation de la température.

En conclusion, la stabilisation biologique du vin par l'embouteillage à chaud étant consacrée par l'expérience, il reste à souhaiter qu'une application raisonnée de l'action précipitante du froid, heureusement conjuguée avec l'action dissolvante d'une température modérée, permette d'obtenir bientôt une stabilisation totale du vin sans le secours d'aucune intervention chimique.

POSSIBILITÉ D'UTILISATION DES RADIATIONS DANS LA CONSERVATION DES VINS

R. PAUNOVIC

Faculté agronomique, Belgrade (Yougoslavie)

Introduction

L'imperfection des procédés classiques permettant la conservation des aliments a conduit les chercheurs à s'orienter vers de nouvelles voies. L'énergie nucléaire, à cet effet, offre de vastes possibilités et déjà depuis une quinzaine d'années, on effectue des recherches intensives sur la possibilité de l'utilisation des radiations ionisantes pour la conservation des aliments. Récemment, de telles recherches ont commencé également pour le vin, dont la conservation pose toujours des problèmes.

On emploie, le plus souvent, pour ces recherches, les rayons gamma et X ainsi que des électrons très accélérés. Des doses semblables de ces radiations provoquent des effets identiques qui peuvent être comparés entre eux. Le but de cet exposé est d'indiquer les résultats obtenus par l'effet létal de la radiation sur les microorganismes dans le vin (en premier lieu sur les levures), microorganismes qui sont d'une importance particulière pour la stabilisation biologique.

Afin d'examiner plus complètement la possibilité de l'application des rayonnements ionisants pour la conservation du vin, il est nécessaire d'expliquer, non seulement leur effet sur les microorganismes, mais aussi leur action sur le vin lui-même. C'est d'autant plus nécessaire qu'il s'agit d'un procédé nouveau, qui n'a pas encore été étudié suffisamment.

Action des rayonnements ionisants sur les microorganismes

On considère que l'effet des rayonnements ionisants sur les microorganismes est la conséquence du coup « au but » du rayon qui provoque dans les molécules de la cellule, des changements qui peuvent amener jusqu'à sa destruction. L'action indirecte des radiations se manifeste par l'action du produit de la radiolyse de l'eau sur les microorganismes et on suppose que l'action indirecte a une influence bien inférieure à celle de l'action directe. Le nombre des cellules altérées dépendra de la dose d'irradiation et le degré d'altération de chaque cellule dépendra du nombre de coups « au but », comme de l'endroit où se produit l'altération de la cellule, c'est-à-dire du rôle de la partie affectée et des capacités de réaction de la cellule elle-même.

Maisel et ses collaborateurs (17, 18) ont constaté que le mécanisme de l'action biologique des radiations ionisantes se manifeste à travers la destruction du cycle des acides tricarboxyliques et des acides gras, dans les processus d'amination, de transamination et de désamination, dans le métabolisme de l'acide nucléique et du

stérol. Ils ont également constaté que la sensibilité aux radiations dépend de la structure et du métabolisme des cellules. Sous ce rapport, MAISEL a montré, qu'à la suite d'une radiation faite à une dose relativement faible, on pouvait trouver des cellules de levures ayant un degré d'altération différent. Les cellules sont : 1° tout à fait intactes ; 2° un peu affectées, ce qui permet le renouvellement de leurs fonctions ; 3° plus altérées, mais pouvant cependant graduellement se renouveler ; 4° entièrement détruites, mais manifestant des fonctions vitales ; 5° mortes.

Des examens spéciaux microscopiques, physiologiques et biochimiques ont aidé MAISEL et POGLAZOVA (17) à différencier l'effet de l'élévation de la température de celui des radiations ionisantes. Une haute température provoque, dans un certain sens, des altérations diffuses dans la structure de la cellule et arrête complètement l'activité physiologique et biochimique des microorganismes, tandis que les radiations occasionnent des lésions sélectives plus ou moins importantes qui influent, en partie, sur la fonction des microorganismes. On a observé que les fonctions de reproduction sont les plus sensibles aux radiations, tandis que les autres fonctions le sont beaucoup moins. Ainsi, après une irradiation avec des doses stérilisantes, les levures ont conservé leurs fonctions respiratoires, fermentatives et autres. On s'est aperçu également que l'effet des radiations sur les microorganismes se distingue de l'action des moyens chimiques et des désinfectants ainsi que des antibiotiques.

Le rayonnement peut inactiver et détruire toutes les cellules des microorganismes, au cas où la dose de radiations est suffisamment forte. Différentes espèces de microorganismes sont diversement sensibles à l'action des radiations. La dose létale des radiations n'est pas toujours la même pour une même espèce de microorganisme et dépend de plusieurs facteurs généraux, parmi lesquels on remarque particulièrement : le milieu dans lequel se trouvent les microorganismes, leur état physiologique et la concentration des cellules par unité de volume.

Une même dose de radiations provoque une plus grande action destructive sur les microorganismes en présence d'oxygène qu'en son absence. En l'absence d'oxygène, il existe une certaine protection contre l'action des radiations sur les formes végétatives des microorganismes ; la protection est moins accentuée pour les spores. D'après les interprétations d'ALEXANDER, les cellules affectées par le rayonnement peuvent, en l'absence d'oxygène, se régénérer plus facilement à l'aide du groupe SH cystéine, ce qui est difficile en présence d'oxygène. En outre, on suppose qu'en présence d'oxygène, il se forme une combinaison de peroxyde dans la cellule même.

O'BRIEN (20) a souligné que la plupart des microorganismes possédant la catalase, ont une plus grande résistance aux radiations. La catalase manifeste ici son rôle protecteur, car elle réagit avec le peroxyde d'hydrogène dans la cellule, avant que H_2O_2 ne réussisse à réagir avec les autres combinaisons biologiques activées. Cet auteur a observé une plus grande sensibilité aux radiations pour les levures anaérobies que pour les levures aérobies, ce qui est en corrélation avec la faible teneur en catalase des levures anaérobies, qui se distinguent par leur respiration ralentie.

Un grand nombre d'auteurs constatent que les levures haploïdes sont bien plus sensibles aux radiations que les levures diploïdes. DESROSIER (8) mentionne que pour les levures diploïdes, ayant un plus grand nombre de chromosomes, une plus forte dose de radiations est nécessaire pour que chacun d'eux soit inactivé. GUNTHER et KOHN (10), d'autre part, soulignent que la plus grande sensibilité aux radiations des levures haploïdes est en rapport avec la plus faible intensité de leur respiration.

ALEKSEEVA et ses collaborateurs (1) ont constaté que la dose létale ne dépend pas entièrement de la densité des cellules, si celles-ci se trouvent à une concentration

allant jusqu'à 10^6 par millilitre, mais pour des densités de population plus grandes, dans un milieu qui est irradié, la dose létale s'accroît proportionnellement au logarithme de la concentration.

On observe moins d'oxygène dans une suspension de levures plus concentrée, et on en déduit que c'est la cause de la plus faible action des radiations, ce que GUNTHER et KOHN ont supposé précédemment. Une plus faible teneur en oxygène, pour une plus grande concentration de levures, s'explique par le fait que les levures dépensent plus d'oxygène pour leur processus de respiration qu'il n'en arrive dans le milieu.

Plusieurs auteurs ont fait remarquer les différences de sensibilité des levures dépendant de l'âge de la culture (8). La plus grande résistance des levures aux radiations est trouvée à la fin de la phase de latence, mais pendant la phase logarithmique la sensibilité augmente et, dans la phase stationnaire suivante, la résistance s'accroît à nouveau.

Les constatations mentionnées ci-dessus concernant l'action sur les microorganismes en général, vont nous permettre dans le chapitre suivant, d'étudier les particularités de l'action des radiations sur les microorganismes dans le vin comme milieu hétérogène, ce qui est le thème principal de cet exposé.

INFLUENCES DES RADIATIONS SUR LA MULTIPLICATION DES LEVURES DANS LE VIN

La plupart des données relatives à l'influence des radiations sur les levures ont été obtenues par l'irradiation des levures dans des solutions simples tamponnées ou dans de l'eau distillée, ce qui ne correspond pas aux conditions d'un milieu complexe comme le vin. Celui-ci a été, tout d'abord, irradié dans le but d'accélérer le processus de vieillissement, c'est-à-dire afin de provoquer des changements favorables dans sa composition (2, 4, 5, 6, 7, 23, 24, 25, 29).

BÉRIDZÉ et KURDGELACHVILI (3) ont donné, en 1957, une publication dans laquelle ils indiquent que les rayons gamma peuvent être utilisés dans le but d'améliorer un vin ayant subi un début d'altération microbienne. Pour la stérilisation de tels vins, on a appliqué des doses de 10^6 rep et, à cette occasion, on a remarqué une lésion et une destruction de la structure interne des microorganismes des vins malades, comme par exemple, une déformation de leur membrane. Sous cet effet, une partie importante de la cellule a supporté seulement de faibles lésions et une déformation.

BURJAM, TJURNIA et KURAKSINA (5) ont publié, en 1960, leurs travaux sur l'influence des rayons gamma sur les levures et les bactéries malolactiques. Ces auteurs ont irradié quelques espèces de levures sur moût de bière gélosé avec des doses de 2 500 à 10^6 rep. Après deux mois et demi, toutes ces cultures conservées à la température de 10 °C se sont développées quand elles ont été transférées dans du moût frais. D'après le pourcentage des levures restées vivantes, ces auteurs ont observé de grandes différences dans l'action des radiations sur les différentes espèces de levures. Ils ont conclu que la radiation tue plus efficacement les levures qui ont la propriété de former des granules.

D'après la formation d'alcool en 30 jours de fermentation et suivant le sucre résiduel, les auteurs ont conclu que pour les levures irradiées avec 10^6 rep, la capacité de fermentation n'était pas modifiée.

Ces mêmes auteurs (5) ont irradié un vin rosé demi-sec, additionné de levures *Sacch. vini*, et un vin blanc, additionné de bactéries malolactiques. Après deux mois

et demi de conservation, à une température de 10 °C, les échantillons irradiés ont été placés dans un moût stérilisé ; on a noté que les levures irradiées dans le vin à la dose de 10^3 et 5.10^4 rep ont encore manifesté des activités vitales, tandis que les levures irradiées avec des doses de $1{,}6.10^5$ et $1{,}08.10^6$ rep ne se sont pas reproduites dans le moût stérilisé. Les bactéries malolactiques, à l'encontre des levures, ont manifesté des activités vitales pour des échantillons irradiés à des doses de $1{,}6.10^5$ et $1{,}08.10^6$ rep.

Depuis le début de 1962, durant un stage d'un an au Centre d'Etudes atomiques de Saclay, nous avons commencé l'étude de l'irradiation du vin dans le but d'obtenir sa stabilisation biologique. Au cours de ces recherches, différents types de vins additionnés de *Sacch oviformis* ou de *Sacch. cerevisiae*, ont été irradiés avec des doses variées de rayons gamma. La plupart des essais ont été effectués avec des levures *Sacch. oviformis*, car elles dominent le plus souvent dans le vin après la fin de la fermentation et, en outre, ces levures sont appropriées parce qu'elles supportent une plus grande teneur en alcool et un pH assez bas.

Dans les vins irradiés avec des doses de plus en plus grandes, nous avons trouvé régulièrement un nombre plus faible de levures capables de créer des colonies. Les colonies de levures provenant d'échantillons irradiés, se sont développées très inégalement sur le malt gélosé et sur le vin gélosé ensemencés. Ainsi, après l'ensemencement et la culture, durant trois jours, à la température de 27 °C pour les échantillons irradiés, à côté de colonies de grandeur normale, se trouvaient de petites colonies, dont quelques-unes pouvaient être aperçues à l'œil nu. En poursuivant la culture, des colonies s'accroissent normalement, mais pendant ce temps de nouvelles colonies apparaissent sur boîte de Pétri et leur nombre ne se stabilise qu'après 10 à 14 jours. Un tel développement ralenti des colonies a été le plus accusé pour les échantillons irradiés à plus fortes doses. Si le nombre des colonies trouvé après dix jours de culture est marqué par 100, après trois jours de culture, on trouve, pour les échantillons irradiés avec 0,6 Mrad 57 colonies et pour les échantillons irradiés avec 1,0 Mrad, seulement 31 colonies déjà développées.

Nos constatations sur la reproduction ralentie des cellules de levures après l'irradiation sont en accord avec les résultats qu'a obtenus KOROGODIN (13, 14, 15) qui a irradié les levures dans l'eau distillée. Nous considérons que ce développement inégal et ralenti des colonies de levures irradiées peut être entièrement expliqué avec les interprétations de MAISEL (18) déjà mentionnées, de l'existence de divers degrés dans les altérations causées par radiations et du temps nécessaire au renouvellement des cellules affectées pour donner à nouveau des colonies.

Afin de déterminer plus exactement le nombre de levures capables de former des colonies après l'irradiation, nous avons effectué des numérations régulièrement après dix jours de culture, à la température de 27 °C.

Avec l'augmentation des doses de rayonnement le nombre des levures de vin diminue au début considérablement et plus tard de plus en plus lentement, de telle façon que la courbe des cellules survivantes a un caractère exponentiel. De mêmes doses de radiation ont agi plus efficacement sur les levures dans le vin, quand le rayonnement a été effectué en présence d'oxygène, que dans le même milieu en l'absence d'oxygène. Cela peut s'expliquer également avec les suppositions déjà mentionnées concernant la réaction de l'oxygène sur les constituants des cellules affectées par les radiations.

Avec l'irradiation du vin à une température d'environ 20 °C, nous avons trouvé la dose létale pour *Sacch. oviformis* seulement entre 1 Mrad et 1,2 Mrad. Les doses létales que nous rencontrons en littérature, pour différentes espèces de levures

irradiées dans des solutions tamponnées, varient le plus souvent entre 0,45 et 0,55 Mrad (15, 27), soit la moitié des doses létales que nous avons trouvées pour les levures dans le vin. Ces différences dans les doses létales peuvent s'expliquer si on prend en considération les divers facteurs qui influent sur l'effet des rayonnements. Dans une solution hétérogène comme le vin, quelques constituants peuvent facilement réagir avec les radicaux libres et on peut supposer que, de cette façon, ils peuvent protéger les cellules des radiations.

Par augmentation de la concentration de l'éthanol, du glucose ou de l'acide tartrique dans le vin, nous avons trouvé parallèlement un accroissement de la résistance des levures envers les radiations. De ces trois composants, l'éthanol a montré une plus forte action protectrice. Le rôle protecteur de certains composants organiques a été constaté par d'autres auteurs (8, 9) qui, en premier lieu, soulignent le rôle protecteur marqué de la cystéine. GRÈVE (9) explique la diminution de la radiosensibilité des levures en présence de glucose, par le changement de la pression osmotique de la cellule. D'après ces constatations et d'autres, on peut s'attendre à ce que certains constituants du vin influent sur l'état physiologique des levures et ensuite sur leur sensibilité envers les radiations.

Durant la conservation de vins irradiés à la température du laboratoire ou de la cave (12°5 — 13°5 C), nous avons noté une diminution graduelle du nombre des levures survivantes, par rapport au nombre de levures que nous avions trouvées tout de suite après le rayonnement. Cette diminution en fonction du temps a été plus marquée pour les échantillons irradiés à de plus fortes doses et pour les échantillons conservés à basse température.

Ainsi une teneur plus élevée en alcool, en acides et en tanins dans le vin a influé sur la diminution du nombre de levures après l'irradiation. Elle atteint un degré déterminé, dépendant des conditions favorables, en fonction du nombre des levures pouvant à nouveau se multiplier.

Cette diminution pourrait s'expliquer partiellement en partant du degré d'altération de la cellule pendant l'irradiation et en suivant les conditions du milieu qui facilitent ou entravent le renouvellement des cellules de levures altérées. Les levures qui, après irradiation, sont restées plus ou moins affectées, pourraient se renouveler plus facilement et donner des colonies si, tout de suite après l'irradiation, elles se trouvaient dans un milieu nutritif favorable, comme le malt gélosé. Au contraire, une grande partie des cellules plus altérées, restées dans le vin irradié, seraient détruites parce que le vin est un milieu nutritif moins bon que le malt gélosé. Donc, moins les conditions de température et de composition sont favorables à la reproduction des levures, et plus l'action de l'irradiation est marquée. Mais certaines observations (16) montrent que la conservation des levures entre l'irradiation et l'ensemencement, dans un milieu sans azote, influe sur le renouvellement rapide des levures. De même, la conservation des levures sans azote, avant l'irradiation, contribue à accroître leur résistance au rayonnement.

D'après cet exposé, on peut conclure que les doses létales pour les levures dans le vin sont assez élevées. Les doses létales pour les spores sont encore plus importantes que pour les cellules végétatives. Il en résulte que le problème essentiel, dans ces recherches, est de diminuer la résistance des levures et de leurs spores à l'irradiation. Il est évident que l'on peut y réussir en combinant l'action de l'irradiation et celle de l'élévation de la température ou encore l'action des basses températures. Il faut remarquer que de petites doses d'irradiation rendent les spores bien plus sensibles à une température élevée, tandis qu'au contraire, pour les formes végétatives, on obtient un meilleur effet quand on effectue tout d'abord une élévation de la tem-

pérature jusqu'à 40 °C et qu'on procède ensuite à l'irradiation. Il est possible d'obtenir aussi une action favorable en combinant l'irradiation et la conservation à de basses températures (environ 10 °C), au moins un certain temps.

Afin d'obtenir une vue d'ensemble plus complète des possibilités d'application des rayonnements ionisants, nous allons exposer brièvement les principales constatations concernant l'action des radiations sur la composition chimique et les propriétés du vin.

Action des radiations ionisantes sur la composition du vin

Les rayonnements ionisants, en agissant sur les microorganismes, modifient en même temps partiellement la composition du vin, d'autant plus que la dose de rayonnement est plus forte. On considère que ces modifications sont provoquées, en premier lieu, par l'action des radicaux libres, formés à partir de l'eau au cours de l'irradiation, et beaucoup moins par l'action directe de l'irradiation. Les produits primaires de la radiolyse de l'eau : H, OH, H_2 et H_2O_2, comme les produits secondaires formés en présence de l'oxygène, HO_2, ont pour la plupart la propriété d'agents très actifs et peuvent occasionner une oxydation intense et une réduction des composés avec lesquels ils peuvent venir en contact. Ces agents sont, en même temps, très instables et ainsi disparaissent très rapidement, soit par réaction avec les constituants du milieu, soit par une réaction réciproque. Parmi eux, H_2 n'est pas particulièrement actif, mais il peut s'accumuler en partie et nous pensons (25) qu'il participe à la diminution de la valeur du potentiel d'oxydo-réduction du vin au cours de l'irradiation, comme aux changements notables de cette valeur au cours de la conservation du vin irradié.

Pendant l'irradiation intervient l'oxydation de l'alcool en aldéhyde, dont la teneur augmente régulièrement avec l'accroissement de la dose de rayonnement. Ainsi, par exemple, pour les doses létales pour les levures de 1,2 Mrad, nous avons trouvé une augmentation de la teneur en aldéhyde de 76 mg par litre. Pour les vins rouges irradiés, une diminution de la teneur en aldéhyde se manifeste au cours de la conservation ultérieure, par suite de la combinaison avec les polyphénols, tandis que pour les vins blancs irradiés, la teneur en aldéhyde reste sans changements sensibles (25). On peut supposer que l'irradiation provoque la formation de certains constituants qui ont été remarqués dans l'éthanol pur irradié. Desrosier (8) mentionne que l'irradiation des alcools forme des produits gazeux : hydrogène, méthane et CO, ainsi que des produits liquides : eau, aldéhydes, cétones, glycols et acides. La complexité de ces réactions est illustrée par l'exemple suivant : dans l'éthanol irradié on a constaté la formation d'environ 23 produits différents qui n'ont pas encore été tous identifiés.

L'acidité totale et le pH du vin n'ont pas été notablement changés par l'irradiation. On a remarqué que l'acide succinique, dans une solution aqueuse, peut être en partie transformé par irradiation en acides malique et malonique et que l'acide lactique peut se transformer en acide pyruvique (8).

Par l'application des méthodes chimiques classiques, on ne peut pas constater de changements sensibles dans la teneur totale des sucres réducteurs après irradiation. Par la méthode de chromatographie et celle de marquage par les isotopes, Phillips et Moody (22) ont établi que sous l'action du rayonnement, en présence d'oxygène, le d-glucose en solutions aqueuses se transforme en : acide d-glycuronique, acide d-gluconique, glyoxal, d-arabinose, d-érythrose, formaldéhyde, acide saccharique et 1,3-dihydroxyacétone. Ici, certains produits se sont formés par transformation

directe du glucose et d'autres secondairement. Par irradiation d'une solution de d-fructose, PHILLIPS (21) a obtenu de nombreux sucres réducteurs, mais non des acides. Par l'irradiation d'une solution de saccharose, on obtient graduellement son inversion en glucose et fructose avec formation d'une petite quantité d'autres substances.

Les anthocyannes sont profondément modifiées au cours de l'irradiation du vin. Nous supposons que ces transformations des anthocyannes s'effectuent, en grande partie, à la suite de leur réduction, par l'hydrogène atomique formé, en une forme incolore. D'un autre côté, les anthocyannes s'oxydent au contact d'agents oxydants. Ces transformations amènent une diminution de la teneur en anthocyannes. Au cours de la conservation du vin irradié, en présence d'oxygène, on remarque une oxydation de la forme incolore qui, à cette occasion, se change à nouveau en anthocyanne. En l'absence d'oxygène, nous n'avons pas remarqué de telles transformations de la forme psuedo-base incolore en anthocyanne. Comme conséquence de l'irradiation pour les vins rouges, l'écart des densités optiques entre 420 et 520 mμ diminue, ce qui traduit un changement sensible de la nuance de la couleur. En même temps la capacité pour la dialyse des anthocyannes décroît, ce qui survient également au cours du processus normal du vieillissement du vin, mais seulement pour une bien plus grande période de temps. A côté des anthocyannes, on a noté la modification intense des flavones sous l'action de l'irradiation. Toutes les matières colorées sont modifiées plus fortement en solutions pures que dans le vin (25).

Les leucoanthocyannes, les catéchines, l'acide gallique et l'acide protocatéchique évoluent très peu sous l'action de l'irradiation. A cette occasion, il faut souligner que l'astringence des vins rouges diminue sous l'influence du rayonnement (25).

Les acides cinnamiques et les depsides, acides chlorogénique et isochlorogénique, sont entièrement transformés avec des doses stérilisantes (25).

La teneur en substances azotées du vin diminue sous l'influence des radiations. En solutions aqueuses, on a constaté une désamination et la formation d'ammoniac. Pour les aminoacides soufrés, il se forme une élimination d'hydrogène sulfuré ou l'oxydation de la fonction SH. Pendant ces réactions, le plus souvent se forment des acides organiques, des aldéhydes, de l'hydrogène et de l'oxyde de carbone (8).

La teneur en acide sulfureux libre dans le vin décroît rapidement sous l'influence de l'irradiation ; pour une partie par suite de l'oxydation et pour une autre par suite de la combinaison avec une plus grande teneur en aldéhyde. De plus, il semble que, par sa présence, l'acide sulfureux protège partiellement les levures de l'action du rayonnement et nous considérons que sa présence dans le vin, qui est irradié, n'est pas utile.

D'après ce qui précède, on constate les diverses sensibilités de certains constituants du vin à l'action du rayonnement, conformément aux différentes modifications spontanées des constituants du vin au cours de sa conservation. Cependant on peut remarquer que certains de ces changements sont les conséquences spécifiques de l'action de l'irradiation.

INFLUENCE DES RADIATIONS SUR LE CARACTÈRE ORGANOLEPTIQUE DU VIN

Tout de suite après l'irradiation du vin, on observe de grands changements organoleptiques qui, pour la plupart, ont un sens défavorable et cela d'autant plus

que la dose de rayonnement a été plus forte. Pour les vins rouges, il est particulièrement remarquable que leur astringence soit atténuée. Pendant la conservation, les caractères organoleptiques s'améliorent pour les vins irradiés, de telle sorte que, suivant la dose d'irradiation, leur composition et la température à laquelle ils sont conservés, les vins irradiés peuvent après un à trois mois paraître meilleurs que ceux qui ne l'ont pas été. L'irradiation peut avoir une influence favorable seulement pour des vins nouveaux, tandis que pour des vins vieux, se manifestent surtout des changements non souhaitables. Plus le vin contient de substances phénoliques et plus on pourra l'irradier à forte dose sans provoquer d'action défavorable. Lorsque le vin est conservé à la température ordinaire, les caractères organoleptiques défavorables disparaissent plus rapidement que si le vin est conservé à une température de 10 °C. Cela s'explique en partie par la supposition que les mauvais caractères organoleptiques des vins irradiés proviennent surtout des gaz et composés très volatils formés au cours de l'irradiation qui, à température plus élevée, se dégagent plus facilement du vin. Pour les vins rouges, la dose maximale d'irradiation pour laquelle il n'y a pas de crainte de modifications défavorables, semble se trouver vers 0,6 Mrad, et pour les vins blancs vers 0,2 Mrad, doses sensiblement plus faibles que la dose létale du rayonnement. Les vins irradiés à des doses relativement faibles acquièrent des caractères semblables à ceux des vins vieux ; pour des doses plus fortes apparaît une certaine madérisation.

De cet exposé, il découle que le problème de la recherche de la diminution de la résistance des levures envers l'irradiation doit être encore élargi, afin d'éviter ces influences défavorables.

Une grande partie des divers changements du vin sous l'influence du rayonnement peuvent être suivis par les méthodes modernes d'analyse. Toutefois ces changements sont souvent multiples, par suite de la formation d'un grand nombre de constituants en très petites quantités, et, par là-même, sont difficiles à identifier. Dans ce but, si on admet que du point de vue technique il sera un jour possible d'appliquer l'irradiation des vins à leur conservation, il est nécessaire d'effectuer parallèlement des recherches biologiques, donnant les garanties souhaitables au sujet de l'influence des vins irradiés sur la santé des consommateurs. Les résultats des recherches effectuées jusqu'à présent sur les valeurs nutritives des denrées alimentaires irradiées et sur leur action sur la santé des animaux sont encore insuffisants et souvent contradictoires ; pour cette raison, un problème commun se pose pour tous les produits alimentaires irradiés.

Références bibliographiques

(1) Alekseeva et coll. *Radiobiologija*, 1961, **1**, 6. (2) G. Béridzé et M. Kurdgelasvili. *Vinodelie i vinogr.*, 1956, 7. (3) G. Béridzé et M. Kurdgelasvili. *Vinodelie i vinogr.*, 1957, 5. (4) G. Béridzé et M. Kurdgelasvili. *Trudi konf. po biochimii vinod.*, 1960. (5) N. Burjan et coll. *Trudi konf. po biochimii vinod.*, 1960. (6) T. Cechladze et G. Kipiani. *Soob. A.N. Gruzinskoj*, 1956. (7) T. Cechladze et coll. *Soob. A.N. Gruzinskoj*, 18, 1957. (8) N. Desrosier et Rosenstock. *Radiation Techn. in Food, Agr. Biology*, 1960, Westport. (9) E. Greve. *Zeit. Naturforschung*, 1961, **16**, 9. (10) S. Gunter et H. Kohn. *J. Bacteriol*, 1956, **72**, 422.

(11) Howard-Flanders et A. Tikvah. *Radiation Research*, 1957, 7. (12) Kozlov J. Gorin. *Radiobiologija*, 1962, **2**, 3. (13) V. Korogodin. *Biofizika*, **2**, 1957. (14) V. Korogodin. *Biofizika*, **3**, 1958. (15) V. Korogodin. *Biofizika*, **3**, 1958. (16) H. Laser. *Radiation Research*. 1962, **16**, 4. (17) M. Meisel et M. Poglasova. *Acad. Hongroise Sci.*, 1960, **23**, 1. (18) M. Meisel et coll., *Microbiologija*, 1961, **30**, 5. (19) H. Nucubidze. *Vinodelie i vinogr.*, 1956, **6**. (20) R. O'Brien. *Radiation Botany*, 1961, 1.

(21) G. Phillips. *Nature*, 1954, 173, 1044. (22) G. Phillips, G. Moody. *Int. J. Apl. Rad. Isotopes*, 1959, 6. (23) R. Paunovic. *Publ. Nucl. Energy Commission FPR.*, Yougoslavie, Mars 25-28, 1959, Belgrade. (24) R. Paunovic. *Publikacija SKNE*, 1961, Belgrade. (25) R. Paunovic. Thèse manuscrit, 1963, Belgrade. (26) J.R. Puig. *Industries atomiques* 1/2-1961. (27) B. Proctor. *General cons. Relating to Food Irradiation*. (28) T. Remessova. *Acad. Hongroise Sci.*, 1960, **23**, 1. (29) R. Robinson. *Food Technology*, 8, 1954. (30) E. Sokurova. *Uspehi sovremenoj biochimii*, 1962, **53**, 1. (31) C. Tobias et coll. *Conf. intern. N. Unies*, **10**, 1958.

Résumé

Les doses létales des radiations ionisantes sur les cellules de levures dépendent de plusieurs facteurs comme : leur ploïdité, leur état physiologique, leur nombre, la nature du milieu et les conditions sous lesquelles les levures sont irradiées et conservées après l'irradiation. Grâce à la qualité protectrice de quelques constituants du vin (l'alcool, les sucres, les acides et autres), de plus grandes doses d'irradiation sont nécessaires pour la destruction des levures dans les vins que pour la destruction des levures dans les solutions simples tamponnées.

Au cours de la conservation des vins irradiés avec des doses inférieures à la dose létale, on abaisse le nombre des levures jusqu'à un certain niveau. Suivant la dose de rayonnement et les conditions de conservation, on peut revenir à une nouvelle augmentation de la population.

Les doses létales pour les levures dans les vins peuvent varier le plus souvent entre 1 Mrad et 1,2 Mrad. Pour les spores les doses létales sont encore plus grandes que pour les formes végétatives. On démontre la possibilité de diminution des doses létales en combinant le traitement de rayonnement avec les températures basses ou hautes.

Outre l'effet sur les microbes des vins, les radiations ionisantes changent plus ou moins certains constituants particuliers. On note une augmentation de la teneur en aldéhydes, une diminution de la quantité des substances azotées, de la quantité d'acide sulfureux, des changements évidents chez les anthocyannes, les flavones, les acides cinnamiques, tanin et autres. En même temps se forment des produits gazeux : H_2, CO, CH_4, ainsi qu'un grand nombre de produits identifiés et non identifiés, volatils et non volatils. On suppose que H_2 a une grande influence sur la variation du rH des vins irradiés.

Les rayonnements changent les propriétés organoleptiques des vins ; les doses les plus basses peuvent les améliorer, mais les doses létales mentionnées les déprécient le plus souvent.

Avant que l'application de ce procédé soit possible des expériences sont encore nécessaires du point de vue de l'augmentation de la sensibilité des levures par les rayonnements, l'amélioration de la technologie d'irradiation, ainsi que les recherches portant sur la qualité sanitaire des vins irradiés.

HOW CAN RADIATIONS BE USED IN THE PRESERVATION OF WINE

R. PAUNOVIC

Summary

Lethal doses of ionizing radiations for yeast cells depend on several factors such as : their degree of ploidy, amount, nature of solution and conditions in which yeasts are irradiated and preserved after irradiation. Thanks to the protective quality of a few components of wine (alcohol, sugar, acids and others), greater doses of irradiation are required for the destruction of yeasts in wine than for their destruction in a simple buffer-solution.

During the preservation of wines irradiated with doses below lethal dose, the amount of yeasts is brought down to a certain level. According to the radiation dose and the conditions of preservation, one can return to a state of yeast growth.

Lethal doses for wine yeasts can, as often as not, vary between I Mrad and 1,2 Mrad. For spores, lethal doses are even greater than for vegetative forms. One works out the possibility of reduction of lethal doses by combining the radiation treatment with low or high temperatures.

In addition to their effect on microbes in wine, ionizing radiations more or less alter some particular components of wine. One notices an increase in the aldehyde content, a reduction of the quantity of sulfur dioxide, marked changes occuring in anthocyanins, flavones, cinnamic acids, tannins and others. At the same time, gaseous products are formed : H_2, CO, CH_4, as well as a great number of identified or non-identified, volatile or non-volatile compounds. It is assumed that H_2 much affects the variation of rH in irradiated wines.

Radiations alter the organoleptic properties of wine ; the lowest doses can better them, while the already mentioned lethal doses more often than not make them poorer.

Before this process can be currently used, more experiments are needed, especially from the point of view of an increase of yeast sensitiveness through radiations, improvement in irradiation technology as well as in research work bearing on the sanitary quality of irradiated wines.

MÖGLICHKEIT DER STRAHLENBEHANDLUNG ZUR HALTBARMACHUNG DER WEINE

R. PAUNOVIC

ZUSAMMENFASSUNG

Die letale Dosis jonisierender Strahlen auf die Hefe hängt von mehreren Faktoren ab : Ihrem Ploidiegrad, dem physiologischen Zustand, der Anzahl, der Natur der Lösung und den Bedingungen, unter denen die Hefe bestrahlt und nach der Bestrahlung aufbewahrt wird. Infolge der Schutzeigenschaften einiger Weinbestandteile (Alkohol, Zucker, Säuren, etc.) sind viel stärkere Bestrahlungen notwendig, um die Hefen in einem Wein abzutöten, als in einfachen Pufferlösungen.

Bei der Haltbarmachung von Weinen, die mit einer geringeren als der letalen Dosis bestrahlt wurden, wird die Hefezahl bis zu einem bestimmten Wert abgesenkt. Je nach der Strahlendosis kann hernach wieder eine erneute Vermehrung eintreten.

Die tödlich wirkende Dosis für die Hefen im Wein kann sehr oft zwischen 1 Mrad und 1,2 Mrad schwanken. Für die Sporen ist die letale Dosis noch höher als für die vegetativen Formen. Auf die Möglichkeit der Herabsetzung der tödlichen Dosis wird hingewiesen, indem man die Strahlenbehandlung mit niedrigen oder hohen Temperaturen kombiniert.

Ausser dem Effekt auf die Mikroorganismen des Weines verändert die Jonenbestrahlung mehr oder weniger auch gewisse Einzelbestandteile. Man stellte eine Erhöhung des Aldehydgehaltes fest, eine mengenmässige Herabsetzung der stickstoff-hältigen Substanzen und der Schwefeligen Säure, eine sichtliche Umwandlung der Anthozyane, Flavonole, Zimtsäuren und Gerbstoffe. Gleichzeitig bilden sich gasförmige Produkte : H_2, CO, CH_4 und eine grosse Anzahl anderer flüchtiger und nichtflüchtiger Stoffe, deren Identität man zum Teil noch nicht kennt. Man vermutet, dass der entstandene Wasserstoff grossen Einfluss auf den rH-Wert der bestrahlten Weine hat.

Die Bestrahlung ändert auch die geschmacklichen Merkmale der Weine. Ganz schwache Konzentrationen können ihn verbessern, aber die bereits erwähnten letalen Dosen bringen eine weitgehende Verschlechterung mit sich.

Bevor die Anwendung dieses Verfahrens moglich ist, werden noch Versuche erforderlich sein, die Empfindlichkeit der Hefen auf die Bestrahlung zu erhöhen, die Bestrahlungstechnik sowie die Untersuchungsmethoden bezüglich der gesundheitlichen Eigenschaften der bestrahlten Weine zu verbessern.

SULLA POSSIBILITA DI UTILIZZAZIONE DELLE RADIAZIONI NELLA CONSERVAZIONE DEI VINI

R. PAUNOVIC

RIASSUNTO

Le dosi letali delle radiazioni ionizzanti sulle cellule dei lieviti dipendono da parecchi fattori, come : carattere aploide o diploide, stato fisiologico e numero dei lieviti, la natura del mezzo, e le condizioni sotto le quali i lieviti sono irradiati e conservati dopo l'irradiazione. Grazie alle qualità protettrici d'alcuni costituenti del vino (l'alcool, gli zuccheri, gli acidi, ed altri) sono necessarie delle dosi maggiori di radiazioni per la distruzione dei lieviti nel vino, che per la distruzione dei lieviti in soluzioni semplici, tamponate.

Nel corso della conservazione dei vini irradiati con dosi inferiori alla dose letale, si abbassa il numero dei lieviti fino ad un certo livello. Secondo la dose di irraggiamento e le condizioni di conservazione si puó ritornare ad un nuovo aumento della popolazione.

Le dosi letali per i lieviti nei vini, possono variare per lo più tra 1 Mrad e 1,2 Mrad. Per le spore le dosi letali sono ancora più grandi che per le forme vegetative. Si dimostra la possibilità di diminuzione delle dosi letali, combinando il trattamento di irragiamento con temperature basse o alte.

Oltre all'effetto sui microrganismi dei vini, le radiazioni ionizzanti cambiano più o meno certi costituenti particolari. Si nota un aumento del tenore in aldeidi, una diminuzione della quantità delle sostanze azotate, della quantità d'acido solforoso, dei combiamenti evidenti negli antociani, i flavoni, gli acidi cinnamici, i tannini et altri. Nello stesso tempo si formano dei prodotti gassosi : H_2, CO, CH_4, come pure un gran numero di prodotti noti ed egnoti, volatili e non volatili. Si suppone che l'H_2, abbia una grande influenza sulle variazioni del rH dei vini irradiati.

L'irraggiamento cambia le proprietà organolettiche dei vini ; le dosi più basse possono migliorarle, ma le dosi letali menzionate sono causa molto sovente di un deprezzamento.

Prima che l'applicazione di questi procedimenti sia possibile sono ancore necessarie delle esperienze tendenti ad aumentare la sensibilità dei lieviti per la radiazioni al miglioramento della tecnica d'irraggiamento, come pure delle ricerche sulla qualità dei vini irradiati dal punto di vista sanitario.

POSIBILIDAD DE UTILIZACION DE LAS RADIACIÓNES EN LA CONSERVACIÓN DE LOS VINOS

R. PAUNOVIC

RESUMEN

Las dosis letales de las radiaciones ionizantes, sobre las células de levaduras dependen de varios factores como : sus caracteres cromosomicos, su estado fisiológico, su número, la naturaleza del medio y las condiciones bajo las cuales estas levaduras son irradiadas y conservadas después de la irradiación. Gracias a la cualidad protectora de algunos componentes del vino (el alcohol, los azúcares, los ácidos y otros), son necesarias dosis de irradiación mayores para la destrucción de las levaduras en el vino, que para la destrucción de las mismas en soluciones simples tamponadas.

Durante la conservación de los vino irradiados con dosis inferiores a la letal, se disminuye el número de levaduras hasta un cierto nivel. Según la dosis de irradiación y las condiciones de conservación, se puede volver a un nuevo aumento de población.

Las dosis letales para las levaduras en los vinos pueden variar, con más frecuencia entre 1 Mrad y 1,2 Mrad. Para las esporas las dosis letales son todavia mayores que para las formas vegetativas. Se demuestra la posibilidad de disminución de las dosis letales, combinando el tratamiento de radiación con las temperaturas bajas o altas.

A parte del efecto sobre las microbios de los vinos, las radiaciones ionizantes cambian más o menos ciertos componentes particulares. Se nota un aumento en el contenido de aldehidos, una disminución en la cantidad de substancias nitrogenadas, en la cantidad de ácido sulfuroso, cambios evidentes en los antocianos, las flavonas, los acidos cinámicos, tanino y otros. Al mismo tiempo se forman productos gaseosos : H_2, CO, CH_4 asi como un gran número de productos identificados y no identificados, volátiles y no volátiles. Se supone que el H_2 tiene gran influencia en la variación del rH de los vinos irradiados.

Las radiaciones cambian las propiedades organolepticas de los vinos, las dosis más bajas pueden mejorarlas, pero las dosis letales mencionadas, frecuentemente las deprecian.

Antes de que la aplicación de este procedimiento sea posible, se necesitan todavia experiencias desde el punto de vista del aumento de la sensibilidad de las levaduras a las radiaciones, el mejoramiento de la tecnologia de irradiación, asi como las investigaciones dirigidas hacia la cualidad sanitaria de los vinos irradiados.

INTERVENTION DE P. DUPUY

Station de Technologie végétale, Versailles (France)

Les deux effets des radiations ionisantes

Les radiations ionisantes apportent déjà deux choses intéressantes à l'œnologie.

1° Au point de vue microbiologique, elles fournissent l'exemple de l'utilisation d'une méthode quantitative pour apprécier la destruction des microorganismes. Cette méthode est applicable à d'autres procédés, par exemple au chauffage. Son principe est le suivant. Lorsqu'on représente en fonction de la dose le pourcentage des microorganismes qui survivent au traitement, on obtient une courbe se rapprochant plus ou moins d'une exponentielle (courbe de survie), qui se traduit par une droite sur un graphique semi-logarithmique. A partir de ces courbes, il est facile d'apprécier la dose nécessaire pour obtenir l'effet désiré. On se rend compte en même temps que le résultat (stérilité) sera atteint avec une dose d'autant plus faible que la population microbienne sera peu nombreuse avant le traitement.

2° Au point de vue chimique, nous savons que la maturation naturelle du vin est obtenue par une succession d'oxydations et de réductions. On sait d'autre part que la radiolyse de l'eau produit entre autres les réactions suivantes :

$$H_2O \longrightarrow H^\bullet + OH^\bullet$$

$$H_2O \longrightarrow H^+ + OH^-$$

$$H^\bullet + H^\bullet \longrightarrow H_2$$

$$OH^\bullet + OH^\bullet \longrightarrow H_2O_2 \longrightarrow H_2O + \frac{1}{2} O_2$$

La radiolyse fournit donc à la fois des composés réducteurs, des composés oxydants et même peroxydants. On comprend alors que l'irradiation produise simultanément l'oxydation d'une molécule et la réduction d'une autre. Cela permet d'espérer que l'irradiation qui provoque des modifications chimiques très nombreuses et un peu anarchiques pourra peut-être provoquer des réarrangements moléculaires favorables à la maturation du vin.

INTERVENTION DE R. MOUTON

Chargé de conférences à l'Université de Bruxelles,
Conseiller scientifique : Département de Biologie (Saclay) ;
Institut de Biologie (Seibersdorf, Autriche)

Organisation internationale des recherches de conservation par les radiations

M. PAUNOVIC a justement souligné l'intérêt des procédés combinés sensibilisant les levures de vin aux radiations de façon à pouvoir abaisser les doses d'irradiation gamma à un niveau acceptable du point de vue organoleptique.

L'Institut de Biologie de l' « Österreichische Studiengesellschaft für Atomenergie » à Seibersdorf près de Vienne a démontré la possibilité de remplacer un traitement radiostérilisant de 2 megarads au Co^{60} pour les levures de jus de fruit non fermentés par un traitement équivalent combinant 500 kilorads seulement à une pasteurisation modérée de 15 minutes à 45 °C. Il faut noter que la pasteurisation seule, faite conventionnellement à 70 °C, provoque déjà un goût de cuit qui se développe invariablement lorsque les bouteilles de jus de fruit sont chauffées au-dessus d'un seuil critique de température.

Je saisis d'autre part cette occasion pour mentionner que plusieurs pays membres de l'Agence Européenne de l'Energie Nucléaire (A.E.E.N.) groupant les quelques 20 pays membres de l'Organisation de Coopération et Développement Economique (O.C.D.E.), en coopération avec l'Agence Internationale de l'Energie Atomique groupant quelque 77 pays membres de l'O.N.U., vont apporter leur appui au Centre autrichien de Seibersdorf pour le développement d'un programme de recherche axé sur la préservation de jus de fruits, y compris le jus de raisin, à l'aide de méthodes combinées de pasteurisation et de radiopasteurisation. L'accent sera mis spécialement sur les tests d'innocuité à long terme dont la difficulté et le coût impliquent une mise en commun des moyens de recherche.

Bien qu'on ne puisse extrapoler les résultats obtenus, dans des conditions de traitement données, avec les jus de fruits non fermentés, aux boissons fermentées et en particulier aux vins, il est clair que des recherches portant sur la préservation et l'innocuité de vins traités par ces nouvelles méthodes de préservation ou vieillissement bénéficieront de l'expérience acquise par ce programme de recherche, modèle portant sur plusieurs années et jouissant de l'appui d'experts internationaux en matière de santé publique.

PRÉVENTION DES EFFETS DE L'OXYGÈNE

PROTECTION DES VINS DE L'OXYDATION PAR L'EMPLOI DE L'ACIDE SULFUREUX ET DE L'ACIDE ASCORBIQUE

F. PRILLINGER

Station supérieure de Recherches et d'Enseignement de Viticulture et d'Arboriculture, Klosterneuburg (Autriche)

Les caractères qualitatifs d'un vin, son odeur et son goût, même pour un vin déjà terminé, se modifient fortement et la plupart du temps dans un sens défavorable sous l'influence de l'aération qui accompagne la conservation. D'autre part de faibles oxydations sont nécessaires, spécialement à la fin de la fermentation, pour achever le vin et lui donner son vrai caractère. Pour doser correctement l'influence de ces oxydations, le maître de chai doit ajouter de l'acide sulfureux en quantité juste nécessaire au juste moment. En même temps, à cause des réactions multiples de l'acide sulfureux, d'autres effets favorables pour le vin sont obtenus. On connaît depuis longtemps l'effet conservateur qui protège les vins de l'influence des microorganismes nuisibles et des maladies du vin. L'acide sulfureux est encore efficace pour empêcher le brunissement du moût et du vin jeune grâce à ses propriétés réductrices et inhibitrices des enzymes.

Malheureusement cette utilisation multiple et avantageuse au point de vue pratique s'oppose à des propriétés défavorables au point de vue physiologique et on s'est efforcé depuis longtemps de réduire considérablement son addition massive et de le remplacer par d'autres substances physiologiquement irréprochables. Cette possibilité parut être donnée par l'emploi de l'acide ascorbique et a conduit au cours des dix dernières années à une étude intensive des problèmes en rapport avec le mécanisme d'action de ces deux substances, les phénomènes d'oxydation dans le vin et les possibilités de les diriger. Pour une meilleure compréhension de ces questions, qui paraissent simples au premier abord mais qui sont en réalité très complexes, il est nécessaire de résumer brièvement, à partir du grand nombre de ces travaux, les connaissances théoriques les plus importantes. Finalement on discutera des observations pratiques concernant l'usage de l'acide sulfureux et de l'acide ascorbique et on donnera des directives pour l'emploi favorable de ces substances.

Processus d'oxydation et admission d'oxygène

Nous différencions dans le vin les processus d'oxydation enzymatique et catalytique. Au premier groupe, appartient la casse brune, dans laquelle l'oxygène de l'air dissous est transporté sur les polyphénols par les ferments d'oxydation ou oxydases, avec formation de substances colorées en brun analogues aux quinones. Dans ce cas l'acide sulfureux agit comme réducteur, en se combinant à l'oxygène activé. Il est en outre encore plus efficace à la suite de l'inactivation des enzymes de fixation de l'oxygène. Ces oxydases s'affaiblissent dans le cours de la vinification et les processus d'oxydation catalytique passent au premier plan, surtout provoqués par le fer et le cuivre. Ces deux processus sont absolument nécessaires pour la maturation du vin, mais doivent être dirigés au moment voulu par les voies convenables, sinon des phénomènes d'altération apparaissent. Ceux-ci sont causés en premier lieu par un trop fort contact avec l'air et peuvent être empêchés par l'emploi de substances réductrices appropriées et de mesures pratiques dans les chais. Les oxydations catalytiques consistent en une oxydation de l'acide tartrique en acide dioxytartrique et autres substances carbonyliques, qui produisent une augmentation de la couleur et « arrondissent » le goût. Les tanins et les polyphénols sont pareillement accessibles à une telle transformation oxydative avec les mêmes effets sur le goût et la couleur. D'après les travaux de Ribéreau-Gayon (1) et de Kielhöfer (2), l'oxygène dissous jusqu'à saturation par contact avec l'air dans un vin stable vis-à-vis de l'air et dans lequel aucune oxydation enzymatique n'a plus lieu, n'est encore décelable que pendant environ trois semaines de conservation à l'abri de l'oxygène, car il est consommé par combinaison avec les différents constituants du vin grâce à la formation de produits oxydants intermédiaires. Les deux auteurs sont d'accord pour trouver que par agitation avec l'air à 20 °C, le vin dissout 9 mg d'oxygène par litre et que le degré de saturation est atteint en 30 mn. D'après Kielhöfer cet oxygène est combiné exclusivement au fer et éventuellement au cuivre. Ces métaux présents sous leur forme oxydée, exercent sur le vin une oxydation plus forte que l'oxygène dissous et produisent des oxydations irréversibles pendant la maturation et le vieillissement du vin. La plus grande partie de cet oxygène activé catalytiquement est utilisé dans les vins blancs par l'acide sulfureux et seulement dans une proportion minime par l'acide tartrique et les polyphénols. Dans les vins rouges par contre, ce sont principalement les polyphénols, les tanins et les matières colorantes qui combinent l'oxygène. D'après Ribéreau-Gayon, un vin rouge de Bordeaux peut consommer pendant les quatre années de son « élevage » jusqu'à 700 mg d'oxygène par litre, alors qu'un vin blanc après inactivation des polyphénoloxydases peut en consommer seulement environ 70 mg par litre. En moyenne, pendant la première année, dans le Bordelais et dans les conditions courantes de la vinification, on peut compter sur une consommation d'oxygène d'environ 50 mg par litre. Pour les vins autrichiens, avec les formes habituelles de traitement, de l'ouillage immédiat, la prudente exécution du premier soutirage, et les soins évitant le contact de l'air jusqu'à la mise en bouteilles, la consommation d'oxygène est beaucoup plus faible et atteint seulement 20 mg par litre. En raison de cette grande crainte de la dissolution d'oxygène, on arrive très souvent chez nous à une insuffisance d'aération, spécialement dans la phase de la conservation, à cause du sulfitage précoce et de l'exécution du premier soutirage à l'abri poussé de l'air ; ainsi le développement du goût du vin peut souvent ne pas être atteint. Le tableau 1 donne un aperçu sur la consommation d'oxygène par un vin dans différentes conditions de manipulation dans les chais.

	Dissolution d'oxygène en mg par litre
Soutirage avec un soufflet	0,2 - 0,3
Soutirage et remplissage par la bonde	4 - 0,6
Logement pendant une année en fût de 225 l, plein jusqu'à la bonde	2,8 - 7
Idem, non ouillé	32 - 38
Mise en bouteilles avec tube de tireuse long	0,38 - 0,50
Mise en bouteilles avec tube de tireuse court	1,35 - 1,39
Mise en bouteilles en faisant couler le long de la paroi	0,48 - 0,62
Mise en bouteilles avec tireuse à bec	1,30 - 3,0
Mise en bouteilles de vin mousseux avec contrepression	
a) par l'air comprimé, dissous dans le liquide	0,6 - 4,0
par l'air comprimé, arrivant dans la partie vide	5,9 - 16,7
b) par le gaz carbonique sous pression, dissous dans le liquide	0,4 - 1,1
par le gaz carbonique sous pression, arrivant dans la partie vide	5,7 - 8,4
Bouteille de vin pleine, laissée 24 h ouverte	environ 0,3

La dissolution d'oxygène est très grande dans la mise en bouteilles avec contre pression qui est souvent utilisée en Autriche pour obtenir une meilleure conservation du gaz carbonique. Cela est conditionné par l'air de retour, qui reflue pendant le remplissage de la bouteille dans le fût sous pression et élève localement la pression d'oxygène. Ainsi KIELHÖFER (3) a pu constater dans le tirage en bouteilles d'un vin mousseux en tank une dissolution d'oxygène notable, pouvant conduire à des phénomènes d'oxydation non souhaités pendant la conservation.

RÉACTION DE L'ACIDE SULFUREUX ET DE L'ACIDE ASCORBIQUE SUR L'OXYGÈNE

Au sujet de la réaction de l'acide sulfureux avec l'oxygène dissous dans le vin, il régnait encore très récemment, parmi les techniciens du vin, des idées fausses, car ils supposaient une oxydation directe en SO_3. Mais en réalité, l'acide sulfureux ne réagit absolument pas dans un vin synthétique modèle de pH 3,3 agité avec l'air pendant quatre jours (4). C'est seulement lorsque l'oxygène dissous dans la solution est activé par des substances agissant comme catalyseurs (fer) qu'intervient en peu de temps une oxydation complète en acide sulfurique. Sans la collaboration d'un catalyseur de cette nature l'acide sulfureux n'est pas oxydable, ce que, d'après PAUL, a établi l'utilisation de la méthode de détermination acidimétrique dans l'appareil LIEB-ZACHERL (5). Dans un vin normal, la combinaison de l'oxygène à l'acide sulfureux se poursuit très lentement, même en présence de fer, de telle sorte que l'addition d'acide sulfureux n'arrête pas tout de suite l'effet oxydant de l'oxygène, mais le ralentit seulement quelque peu.

Par contre l'acide ascorbique est très facilement auto-oxydable et est très rapidement oxydé par l'oxygène dissous sans l'intervention d'un catalyseur. Une molécule d'acide ascorbique consomme alors non pas un atome, mais deux atomes d'oxygène, et il ne se forme pas de l'eau à côté de l'acide déhydroascorbique, mais de l'eau oxygénée, décelable par le sulfate de titane et qui peut produire d'autres

oxydations. L'acide déhydroascorbique formé ne consomme plus d'oxygène et est également stable vis-à-vis de l'eau oxygénée. L'acide ascorbique restant est lui-même oxydé seulement très lentement par l'eau oxygénée, mais plus vite cependant en présence de fer et de cuivre. Dans ces conditions, il est consommé un peu moins de deux atomes d'oxygène par molécule d'acide ascorbique et la plus grande proportion de l'eau oxygénée formée peut oxyder d'autres constituants du vin. Ce sont surtout l'acide sulfureux présent, l'acide tartrique et les polyphénols. Cela signifie aussi que l'acide ascorbique peut devenir très fortement oxydant par suite de sa réaction avec l'oxygène avec formation d'eau oxygénée. En présence d'acide sulfureux l'acide ascorbique peut éliminer immédiatement l'oxygène dissous dans un vin, sans que d'autres constituants du vin soient attaqués (6). Il s'agit donc ici d'une oxydation couplée dans laquelle l'oxygène dissous dans le vin est rendu inoffensif par des quantités à peu près équivalentes d'acide ascorbique et d'acide sulfureux. Ce fait peut être utilisé pour obtenir une diminution ménagée de l'acide sulfureux libre dans un vin, en lui ajoutant de l'acide ascorbique et en l'aérant fortement (7). Une altération du vin par l'eau oxygénée formée ne peut pas intervenir, parce que sa formation est limitée par la faible solubilité de l'oxygène et reste toujours plus lente que sa réaction avec l'acide sulfureux. C'est seulement lorsqu'il n'y a plus d'acide sulfureux libre, que d'autres constituants du vin sont attaqués par l'eau oxygénée.

Oxydation de l'acide tartrique

Sur la question de l'oxydation de l'acide tartrique, Kielhöfer (4) a pu constater que dans un vin modèle en présence de 10 mg de fer par litre, à l'obscurité, n'intervient aucune consommation d'oxygène et également qu'aucun produit d'oxydation de l'acide tartrique n'est décelable. Par contre à la lumière du jour a lieu une consommation considérable d'oxygène, correspondant en l'espace de 48 h à une oxydation d'environ 170 mg d'acide tartrique par litre. Dans des conditions déterminées, cette réaction est également possible pendant la conservation du vin à l'obscurité, et elle est d'une grande signification en ce qui concerne le développement du vin et la formation du bouquet (2). En présence d'acide sulfureux et dans les mêmes conditions, cette oxydation est réduite à un quart. Comme on a observé également une inhibition analogue de la consommation d'oxygène dans l'oxydation de l'acide ascorbique par l'acide sulfureux, l'effet protecteur de l'acide sulfureux sur l'oxydation dans les vins pourrait être expliqué par l'empêchement de l'activation de l'oxygène dissous par le fer. A l'inverse l'oxydation de l'acide sulfureux est également empêchée par la présence d'acide tartrique, ce qui peut être en relation avec le blocage du fer par l'acide tartrique par formation d'un complexe. Au cours de l'oxydation de l'acide ascorbique dans des solutions synthétiques en présence de fer et d'acide tartrique, deux atomes d'oxygène sont utilisés exactement par molécule d'acide ascorbique, parce que l'eau oxygénée formée n'oxyde plus une partie de l'acide ascorbique restant, mais attaque d'abord l'acide tartrique présent en grande quantité. A la lumière du jour il est consommé encore plus d'oxygène, parce qu'à côté de l'autooxydation de l'acide ascorbique s'effectue encore l'oxydation de l'acide tartrique catalysée par le fer. Ainsi Kielhöfer a pu calculer qu'à l'obscurité se formait, par molécule d'acide ascorbique, une quantité équivalente de produits d'oxydation de l'acide tartrique, qui atteignait cependant en présence de fer approximativement 1,3 molécule. Cette réaction paraît aussi être la cause du caractère particulier à la couleur, à l'odeur et au goût (du type « Auslese », raisins surmûris) qu'on peut obtenir par une addition élevée d'acide ascorbique à la vendange sans employer l'acide sulfureux. Par contre cette oxydation de l'acide tartrique par l'acide ascorbique

n'est plus possible par aération en présence d'acide sulfureux, parce que celui-ci accapare immédiatement l'eau oxygénée nécessaire à cette réaction.

Activité des ferments d'oxydation

D'après les recherches de Diemair et Koch (8), les polyphénoloxydases présentes dans le moût, qui produisent la casse brune ou casse oxydasique, sont à un haut degré liées aux substances du trouble et par conséquent sont beaucoup moins actives dans le moût limpide. L'acide sulfureux n'agit pas seulement sur cette réaction de brunissement comme une substance réductrice, mais également comme un inhibiteur diastasique. Après l'addition d'acide sulfureux, l'activité du ferment diminue aussitôt très fortement et ne peut réapparaître en faible proportion qu'après l'utilisation complète de l'acide sulfureux. Cette inactivation du ferment n'est donc pas entièrement irréversible, mais elle exerce une protection suffisante de la casse brune même pour des sulfitages relativement faibles de 30 à 70 mg par litre avant la fermentation. Avec l'acide ascorbique seul, cet effet n'est atteint que pour des quantités plus élevées. Cassignard a trouvé qu'une addition de 200 mg d'acide ascorbique par litre à la vendange suffisait à assurer une protection efficace contre les phénomènes d'oxydation. D'après Paul (9), la casse brune des vins jeunes ne se produit plus après addition de 300 à 500 mg d'acide ascorbique par litre à la vendange sans emploi d'acide sulfureux. Mais à cause du contact de l'air pendant le traitement et le logement intervient une forte oxydation de l'acide tartrique, accompagnée de la modification gustative déjà indiquée. Cela s'explique par le fait que l'oxygène activé par la polyphénoloxydase oxyde complètement une partie de l'acide ascorbique, tandis que l'oxygène dissous forme de l'acide déhydroascorbique et de l'eau oxygénée ; ne pouvant être combinée à l'acide sulfureux, cette eau oxygénée favorise l'oxydation de l'acide tartrique, ce qui autrement n'est le cas que pour des vendanges très mûres ou surmûries.

Consommation de l'acide sulfureux pendant la conservation

Dans un vin terminé, dans lequel les réactions enzymatiques ne sont plus possibles après un sulfitage convenable, et qui contient encore une petite quantité d'acide sulfureux libre après combinaison à l'acétaldéhyde et à d'autres constituants du vin, s'effectue une oxydation lente mais continue de l'acide sulfureux jusqu'à sa transformation complète en acide sulfurique, sous l'influence de l'oxygène dissous toujours présent et de l'action catalytique du fer. A la suite de la rupture de l'état d'équilibre, se forme toujours à partir de l'acide sulfureux combiné, une faible fraction d'acide sulfureux libre qui est soumis à cette oxydation lente. Les substances combinant de l'acide sulfureux (principalement l'acétaldéhyde, à côté d'autres substances le combinant plus faiblement) s'accumulent en grande quantité et peuvent influencer le goût. De cette façon, si on ne procède pas au sulfitage nécessaire, les substances qui combinent faiblement l'acide sulfureux sont tout d'abord libérées, de même que plus tard l'acétaldéhyde, et provoquent le goût d'évent et d'aldéhyde. La rapidité avec laquelle l'acide sulfureux libre disparaît au cours de la conservation et le moment de l'apparition de ce mauvais goût dépendent du type de vin, des conditions de logement et de la dissolution d'oxygène. De même pendant les transformations biologiques du vin (fermentation secondaire), il peut se former de l'acétaldéhyde libre et apparaître un goût semblable. Mais nous pouvons assurer que l'apparition d'acétaldéhyde

libre n'est en aucun cas la conséquence d'une oxydation de l'alcool (10). Dans le logement en fût, les vins autrichiens consomment environ 5 à 15 mg d'acide sulfureux libre par litre et par mois. Dans le logement en bouteille la diminution d'acide sulfureux libre est assez importante dans les premiers temps et atteint environ 1 à 2 mg par litre et par mois. Pour éviter une modification désagréable du goût du vin au cours de la conservation, le produit doit être assuré contre les transformations biologiques (filtré) et toujours contenir une quantité d'acide sulfureux libre suffisante pour pouvoir combiner l'oxygène dissous. C'est seulement lorsque tout l'acide sulfureux libre est consommé, à cause d'une dissolution forte et permanente d'oxygène ou d'un processus biologique, que peut apparaître le goût d'évent et que diminue l'acide sulfureux combiné (11).

Action de l'acide ascorbique dans le vin

Les premières recherches sur l'emploi de l'acide ascorbique conduisirent souvent dans toutes les stations de recherches à des résultats négatifs (12). Une addition moyenne de 50 à 70 mg d'acide ascorbique par litre au moût ou après la fermentation, sans utiliser d'acide sulfureux, agissait le plus défavorablement. Les vins blancs prenaient beaucoup de couleur, ils perdaient leur arôme fin et fruité et donnaient l'impression à la dégustation d'une forte action oxydative ; pour ces raisons, ils étaient en général jugés défavorablement. De semblables résultats furent obtenus par sulfitage du moût et addition d'acide ascorbique après la fermentation. Cela est à rattacher au fait que ces vins contenaient jusqu'à 50 mg d'acétaldéhyde libre par litre provenant de la fermentation et agissant fortement sur le goût (goût d'évent ou d'oxydation). Ces vins étaient beaucoup plus réducteurs et présentaient un potentiel rédox plus bas, ainsi que des faibles valeurs ITT, et ce qui était étonnant, malgré cela, montraient un caractère oxydé.

Le potentiel d'oxydoréduction seul n'a donc pas l'influence importante et décisive sur le goût d'une boisson qu'on lui avait attribuée au début. Cette influence ne s'exerce absolument pas quand sont présentes d'autres substances sapides pouvant être même des produits d'oxydation. La diminution de l'acide sulfureux libre est toujours plus grande que sans addition d'acide ascorbique. Egalement dans les vins traités à l'acide ascorbique des brunissements enzymatiques sont possibles car, à l'inverse de l'acide sulfureux, l'acide ascorbique ne détruit pas les enzymes correspondantes qui restent presque entièrement actives. Même dans les vins complètement terminés et normalement sulfités, on note souvent encore des insuccès par adjonction d'acide ascorbique et on peut constater à côté d'une forte diminution de l'acide sulfureux libre, également un recul des caractères fruités du vin. Ces résultats sont faciles à expliquer, lorsqu'on tient compte des réactions déjà indiquées de l'acide sulfureux et de l'acide ascorbique avec l'oxygène, de l'existence d'eau oxygénée et des réactions secondaires qu'elle produit dans le vin. Un emploi avantageux de l'acide ascorbique dans le traitement des vins est seulement possible après la fermentation en liaison avec l'emploi d'acide sulfureux et est soumis aux considérations suivantes (14) :

1) Le vin doit déjà avoir atteint son complet achèvement ; il doit contenir à l'état de combinaison sulfitique l'acétaldéhyde et toutes les autres substances aptes à combiner de l'acide sulfureux ; il ne doit permettre aucune oxydation enzymatique et doit absolument contenir de l'acide sulfureux libre.

2) Pour limiter les oxydations non enzymatiques, la teneur en fer et en cuivre doit être la plus faible possible, de même que la quantité d'oxygène dissous dans le vin.

3) Pour éviter les réactions secondaires nuisibles causées par l'eau oxygénée formée lors de l'oxydation de l'acide ascorbique par l'oxygène, le vin doit contenir une quantité d'acide sulfureux libre suffisamment grande (en rapport avec l'oxygène dissous), 30 à 50 mg par litre par exemple.

Possibilités d'emploi de l'acide ascorbique

Les indications ci-dessus sont surtout données pour la mise en bouteilles d'un vin qui doit conserver le plus longtemps possible son caractère fruité originel sans phénomène de vieillissement. L'oxygène dissous au cours du logement en fût et, en plus grande quantité, au cours de la mise en bouteilles la plus soignée a une grande influence sur le développement du goût et les caractères du vieillissement du vin en bouteille. Par l'emploi simultané d'acide sulfureux et d'acide ascorbique selon les indications ci-dessus, l'effet de l'oxygène contenu dans le vin est arrêté en peu de jours. Il se produit immédiatement après l'addition d'acide ascorbique au vin sulfité, par suite de l'oxydation couplée, une forte diminution des deux substances (environ 20 à 30 mg par litre), qui ensuite, même après plusieurs années, atteint à peine 5 mg par litre. Les vins traités peuvent de cette façon mieux supporter le « choc » inévitable que cause l'embouteillage ; ils montrent un vieillissement plus lent et se goûtent plus frais et plus fruités, en conservant le goût typique du cépage (14). Par un traitement à l'acide ascorbique avant la mise en bouteilles, on peut déterminer une nette amélioration du goût avec un affinement de l'arôme du cépage et un retard sensible des caractères de vieillissement pour les vins des cépages répandus en Autriche : Riesling, Grüner Veltiner, Muller-Thurgau et Muscat Ottonel. Comme les vins autrichiens donnent déjà après un ou deux ans de conservation en bouteilles l'impression d'un vieillissement avancé et que les consommateurs préfèrent des vins jeunes et fruités, l'emploi judicieux de l'acide ascorbique constitue un remarquable progrès par rapport à celui de l'acide sulfureux. Kielhöfer (15) considère également comme extrêmement avantageux l'emploi de l'acide ascorbique pour le tirage des vins mousseux de cuve close, pour éviter l'effet nuisible de l'oxygène dissous en grande quantité pendant l'embouteillage sous pression. Mais même pour les vins mousseux obtenus par la méthode champenoise, l'addition d'acide sulfureux et d'acide ascorbique à la liqueur offre des avantages gustatifs (16).

Pour les vins des cépages Traminer, Burgunder Weiss, Neuburger et Spätrot l'emploi de l'acide ascorbique n'est pas favorable, parce que ces vins présentent un caractère un peu oxydatif et développent leur bouquet typique et augmentent de qualité seulement après plusieurs années de garde en bouteilles. Pour ces types de vin l'addition d'acide ascorbique n'est donc pas recommandable. Des vins qui présentent déjà un goût de vieillissement et sont sans caractère, redeviennent frais et fruités après l'addition de 50 à 100 mg d'acide ascorbique par litre pour une teneur en acide sulfureux libre de 30 mg par litre. Même des vins rouges qui montrent déjà à l'odeur et au goût des caractères désagréables de vins vieillis, sans avoir pris cependant une couleur tuilée, reprennent les caractères normaux du bouquet des vins rouges après le même traitement en l'espace de un à deux mois. Egalement pour conserver les caractères jeunes de vins logés dans des grandes cuves en ciment, où est exclue la dissolution continue d'oxygène, l'emploi de l'acide ascorbique peut assurer un bon succès. Par rapport aux vins témoins, les vins traités n'ont montré aucun caractère de vieillissement même après un an de conservation. Ce rajeunissement des vins et cette conservation des caractères jeunes sont deux grands avantages pour notre économie viticole pour les années de fortes récoltes. On suppose cependant que les vins traités sont bien

filtrés, suffisamment stables au point de vue acide sulfureux et contiennent peu de fer. On ne peut pas encore expliquer clairement à quoi se rattachent ces modifications favorables du goût ; d'après nos observations sans doute dépendent-elles surtout du type de vin et elles ne sont pas seulement la conséquence d'un abaissement de potentiel d'oxydo-réduction. Mais cette diminution du potentiel d'oxydo-réduction peut favoriser aussi la stabilisation des vins et empêcher les précipitations de phosphate ferrique, comme PEYNAUD (16) l'a montré. En France l'utilisation de l'acide ascorbique dans ce sens est plus importante que pour l'amélioration du goût. Dans les vins rouges et blancs, l'addition d'acide ascorbique abaisse fortement le potentiel d'oxydo-réduction et en même temps fait passer le fer à l'état ferreux (bivalent). De cette façon la précipitation de phosphate ferrique est empêchée à la suite de l'aération modérée de la mise en bouteilles ou du transvasage. Les quantités d'acide ascorbique nécessaires varient de 50 à 100 mg par litre. Mais quand le vin est à nouveau fortement aéré, de grandes quantités d'acide ascorbique sont rapidement oxydées et le vin peut se retroubler à la suite de l'augmentation du fer ferrique (trivalent).

Pour éviter la casse brune de la vendange rouge, on a obtenu de bons résultats par addition de 200 mg d'acide ascorbique par litre ; cependant l'effet ne s'est pas conservé longtemps après la fermentation et une faible quantité d'acide sulfureux est plus favorable. L'acide sulfureux est également supérieur pour le rétablissement d'un vin rouge trop fortement oxydé, mais d'après nos recherches l'emploi d'acide sulfureux et d'acide ascorbique est encore meilleur. C'est seulement lorsqu'on ajoute de très grandes quantités d'acide ascorbique à la vendange (jusqu'à 500 mg par litre), qu'on évite la casse oxydasique, avec les opérations normales de vinification, parce que de l'acide ascorbique non oxydé est toujours présent. Pourtant cet emploi de l'acide ascorbique sur la vendange modifie profondément le type gustatif du vin et lui donne le caractère d'un vin de raisins surmûris (Auslese).

On peut dire, pour terminer, que l'emploi combiné de l'acide ascorbique et de l'acide sulfureux offre des avantages manifestes pour le traitement des vins. Même si le succès ne correspond pas toujours à l'attente, malgré une observation scrupuleuse des règles de l'emploi convenable de l'acide ascorbique, ce qui peut être possible en tenant compte de la grande variété des vins d'origine, le vin ne peut en tout cas souffrir aucun dommage par ce traitement. Beaucoup de travaux compétents ont apporté davantage de connaissances sur les possibilités de réactions variées de l'acide sulfureux ; ainsi ce produit peut être employé systématiquement en tenant compte des conditions données et non plus seulement suivant les règles traditionnelles comme auparavant. De même par l'emploi parcimonieux d'acide sulfureux et d'acide ascorbique on peut obtenir des effets favorables et augmenter l'attrait du vin pour les consommateurs.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(1) J. RIBÉREAU-GAYON. Contribution à l'étude des oxydations et réductions dans les vins. Delmas, Bordeaux, 1933. (2) E. KIELHÖFER et G. WÜRDIG. *Weinwissenschaft*, 1962, **17**, 137 et 217. (3) E. KIELHÖFER et G. WÜRDIG. *Mitteilungen*, 1963, **12**, 18. (4) E. KIELHÖFER et G. WÜRDIG. *Weinberg u. Keller*, 1958, **5**, 644. (5) F. PAUL. *Mitteilungen*, 1954, **4**, 225. (6) E. KIELHÖFER et G. WÜRDIG. *Weinwissenschaft*, 1960, **15**, 103. (7) E. KIELHÖFER et G. WÜRDIG. *Weinblatt*, 1960, **54**, n° 8. (8) W. DIEMAIR, J. KOCH et D. HESS. *Zeits. Lebens. Unters. Forsch.*, 1960, **113**, 381. (9) F. PAUL. *Mitteilungen*, 1962, **12**, 275. (10) F. PRILLINGER et F. PAUL. 100 Jahre Bundeslehranstalt Klosterneuburg, 1960, p. 114.

(11) F. PRILLINGER. *Mitteilungen*, 1960, **10**, 130. (12) H. KONLECHNER et H. HAUSHOFER. *Mitteilungen*, 1957, **7**, 248. J. KOCH. *Weinberg u. Keller*, 1956, **3**, 463. E. KIELHÖFER, *Weinberg u. Keller*, 1956, **3**, 324. G. TROOST. Jahresbericht Lehr u. Forschungsanstalt Geisenheim, 1954-1955. (13) F. PAUL. *Mitteilungen*, 1958, **8**, 123. W. DIEMAIR, J. KOCH et D. HESS. *Weinberg u. Keller*, 1960, **7**, 404. (14) H. KONLECHNER et H. HAUSHOFER. *Mitteilungen*, 1960, **10**, 73. W. DIEMAIR, J. KOCH et D. HESS. *Zeits. Lebens Unters. Forsch.*, 1961, **114**, 26. H. RENTSCHLER et H. TANNER. *Zeits. Schweiz Wein. Obst.*, 1960, **69**, 148. E. KIELHÖFER. *Weinberg u. Keller*, 1959, **6**, 100. P. BRUN et P. MAINGUY. *Ann. Falsif. Exp. Chim.*, 1961, **54**, 463. (15) E. KIELHÖFER et G. WÜRDIG. *Mitteilungen*, 1963, **12**, 18. (16) E. PEYNAUD. *C.R. Acad. Agric.*, 1961, **47**, 67.

Résumé

Les transformations défavorables des vins pendant la conservation sont dues principalement à des phénomènes d'oxydation et peuvent être influencées par l'acide sulfureux. Mais à côté d'autres effets favorables, l'acide sulfureux appelle certaines réserves au point de vue santé. Des recherches poursuivies pour le remplacer par l'acide ascorbique, il est résulté une série de connaissances nouvelles sur les processus d'oxydation du vin et sur le mécanisme de l'action de l'acide sulfureux et de l'acide ascorbique.

L'oxygène dissous dans le vin en quantité variable au cours des différentes manipulations des chais est activé soit par les enzymes, soit par le fer, avant de pouvoir réagir avec les constituants du vin. L'acide sulfureux n'agit pas seulement comme un réducteur, mais comme inhibiteur des enzymes. Il réagit aussi avec l'oxygène dissous dans le vin, en présence de fer, mais lentement. Au contraire, l'acide ascorbique est auto-oxydable, il consomme deux atomes d'oxygène et forme, à côté de l'acide déhydroascorbique, également de l'eau oxygénée, qui agit comme oxydant énergique vis-à-vis de l'acide sulfureux et des autres constituants du vin. Pour cette raison, une addition d'acide ascorbique n'agit favorablement dans le vin que lorsqu'aucune oxydation enzymatique ne peut intervenir et quand, après combinaison à l'acétaldéhyde, une quantité suffisante d'acide sulfureux libre reste présente.

De cette façon, avant l'embouteillage d'un vin, l'oxygène dissous est aussitôt consommé, le vieillissement oxydatif est nettement retardé et le bouquet est influencé favorablement. Des vins blancs ou rouges très vieux sont même améliorés au point de vue de l'odeur et du goût par un traitement à l'acide ascorbique en présence d'acide sulfureux libre et reprennent un caractère plus jeune. Grâce à son fort effet réducteur sur le fer, la casse ferrique est empêchée pour de faibles aérations.

PROTECTION OF WINE FROM OXIDATION BY THE USE OF SULFUR DIOXIDE AND ASCORBIC ACID

F. PRILLINGER

Summary

The unfavourable changes occuring during wine preservation are mainly due to oxidizing phenomena, which changes can be influenced by sulfur dioxide. However, despite its other good effects, sulfur dioxide cannot be used without some reserves, from a health point of view. Recent research work with a view to replacing it by ascorbic acid, has added much to the knowledge of the oxidation processes of wine and to that of the respective action of sulfur dioxide and ascorbic acid.

The oxygen dissolved in wine in unequal quantity during the various manipulations in cellars, is rendered active by either enzymes or iron, before being able to react with the constituents of wine. Sulfur dioxide does not simply act as a reducing agent but also as an inhibitor of enzymes. In addition, it reacts with the oxygen dissolved in wine, in the presence of iron, but the reaction is slow. On the contrary, ascorbic acid is autooxidable, it absorbs two atoms of oxygen and also produces, with dehydroascorbic acid, hydrogen peroxide which acts as a powerful oxydizing agent on sulfur dioxide and on the other constituents of wine. That is why the addition of ascorbic acid can react favourably on wine only if no enzymatic oxidation can intervene and if after combination with acetaldehyde, a sufficient quantity of free sulfur dioxide remains present.

Thus, before wine is bottled, the dissolved oxygen disappears right away, aging through oxidation is clearly delayed and the bouquet is favourably influenced. Very old white or red wines can even be bettered, with respect to their odor and taste, by an ascorbic acid treatment in the presence of free sulfur dioxide and recover younger characteristics. Thanks to the strong reducing effect of ascorbic acid on iron, there is no ferric casse for slight exposures to air.

OXYDATIONSCHUTZ DER WEINE DURCH SCHWEFLIGE SÄURE UND ASKORBINSÄURE

F. PRILLINGER

Zusammenfassung

Die negativen Veränderungen eines Weines bei der Lagerung sind hauptsächlich auf Oxydationserscheinungen zurückzuführen und durch SO_2 zu beeinflussen. Neben anderen günstigen Wirkungen im Wein ist aber die SO_2 gesundheitlich nicht unbedenklich und bei den Versuchen des Ersatzes durch AS ergaben sich eine Reihe neuer Erkenntnisse über die Oxydationsvorgänge im Wein und dem Wirkungsmechanismus von SO_2 und AS.

Der von einem Wein bei den verschiedenen kellerwirtschaftlichen Massnahmen in wechselnder Menge aufgenommene Sauerstoff wird entweder durch Fermente oder durch Eisen kathalytisch aktiviert, ehe er mit Weininhaltsstoffen reagieren kann. Die SO_2 wirkt nicht nur reduzierend, sondern auch fermenthemmend. Mit dem im Wein gelösten Sauerstoff reagiert SO_2 auch in Gegenwart von Eisen nur langsam. AS hingegen ist autoxydabel, verbraucht 2 Atome Sauerstoff und bildet neben Dehydroaskorbinsäure noch H_2O_2, das auf SO_2 und andere Weinbestandteile sehr stark oxydierend wirkt. Daher kann sich ein AS-Zusatz zum Wein nur dann günstig auswirken, wenn keine enzymatischen Oxydationen mehr auftreten und nach Abbildung des Acetaldehyds eine genügende Menge freies SO_2 vorhanden ist. Vor der Flaschenfüllung eines Weines wird auf diese Weise durch AS-Zusatz der gelöste Sauerstoff sofort verbraucht, die Alterung weitgehend verzögert und das Bukett günstig beeinflusst. Aber auch überalterte Weiss-und Rotweine lassen sich durch eine AS-Behandlung bei Anwesenheit von freiem SO_2 im Geruch und Geschmack verbessern und nehmen wieder einen jugendlichen Charakter and. Wegen der starken Reduktionswirkung auf das Eisen lässt sich auch der Eisenbruch nach schwacher Luftberührung verhindern.

PROTEZIONE DEI VINI DALL'OSSIDAZIONE PER MEZZO DELL'ACIDO SOLFOROSO E DELL'ACIDO ASCORBICO

F. PRILLINGER

Riassunto

Le trasformazioni sfavorevoli dei vini durante la conservazione, sono dovute principalmente a fenomeni d'ossidazione. Su di esse si puó influire con l'acido solforoso. Ma accanto al altri effetti favorevoli, l'acido solforoso presenta delle riserve dal punto di vista dell'igiene alimentare. Dalle ricerche perseguite nel tentativo di sostituirlo con l'acido ascorbico sono derivate una serie di nuove conoscenze sui processi d'ossidazione del vino, e sul meccanismo d'azione dell'acido solforoso e dell'acido ascorbico.

L'ossigeno disciolto nel vino in quantità variabile nel corso delle diverse operazioni di cantina, è attivato sia da enzimi, sia dal ferro, prima di poter reagire con i costituenti del vino. L'acido solforoso non agisce soltanto come un riduttore, ma anche come inibitore degli enzimi. Con l'ossigeno disciolto nel vino l'anidride solforosa reagise lentamente, anche in presenza di ferro. Al contrario l'acido ascorbico è auto-ossidabile : esso consuma due atomi d'ossigeno, e forma, accanto all'acido deidro-ascorbico, anche dell'acqua ossigenata, che agisce come ossidante energico nei riguardi dell' acido solforoso e di altri costituenti del vino. Per questa ragione un'addizione di acido ascorbico al vino agisce favorevolmente solo quando non intervengano ossidazioni enzimatiche, e quando, dopo combinazione con l'acetaldeide rimane presente una quantita sufficiente d'acido solforoso libero.

In questo modo, prima dell'imbottigliamento di un vino, l'ossigene disciolto è subito consumato dall'acido ascorbico aggiunta, l'invecchiamento ossidativo è nettamente ritardato, ed il bouquet è influenzato favorevolmente. Certi tipi di vini bianchi e rossi molto vecchi, sono anche migliorati dal punto di vista dell'odore e del gusto da un trattamento con acido ascorbico in presenza di acido solforoso libero, e riacquistano un carattere più giovane.

Grazie al suo forte potere riduttore nei riguardi del ferro, la casse ferrica è impedita nel caso di deboli aerazioni.

PROTECCIÓN DE LOS VINOS CONTRA LA OXIDACIÓN, MEDIANTE EL USO DEL ÁCIDO SULFUROSO Y DEL ÁCIDO ASCÓRBICO

F. PRILLINGER

Resumen

Las transformaciones desfavorables de los vinos durante la conservación, son debidas principalmente a fenómenos de oxidación, y pueden ser influenciadas por el ácido sulfuroso. Pero junto a otros efectos favorables, el ácido sulfuroso debe considerarse con ciertas reservas desde el punto de vista de salud. De las investigaciones hechas para substituirlo por el ácido ascórbico, han resultado conocimientos nuevos sobre los procesos de oxidación del vino y sobre el mecanismo de acción del ácido sulfuroso y del ácido ascórbico.

El oxigeno disuelto en el vino en cantidad variable, durante las diferentes manipulaciones de las bodegas, es activado, ya sea por las enzimas o por el hierro, antes de poder reaccionar con los componentes del vino. El ácido sulfuroso no actúa solamente como un reductor, sino como inhibidor de las enzimas. Reacciona también con el oxigeno disuelto en el vino, en presencia de hierro, pero lentamente. Por el contrario, el ácido ascórbico es autoxidable ; consume dos atomos de oxigeno y forma junto con el ácido dehidroascórbico, también agua oxigenada, que actúa como oxidante enérgico frente al ácido sulfuroso y otros componentes del vino.

Por esta razón, una adición de ácido ascórbico sólo actúa favorablemente en el vino, cuando ninguna oxidación enzimática puede intervenir y cuando después de la combinación con el acetaldehido, queda presente una cantidad suficiente de ácido sulfuroso libre.

De esta manera, antes del embotellado de un vino, el oxigeno disuelto es immediatamente consumido, el envejecimiento oxidativo es palpablemente retardado, y el bouquet influenciado favorablemente. Los vinos blancos o tintos muy viejos son aún mejorados desde el punto de vista del olor y del gusto, por un tratamiento con ácido ascórbico, en presencia de ácido sulfuroso libre, y recuperan un carácter más jóven. Gracias a su fuerte acción reductora sobre el hierro, la quiebra férrica es impedida para las aireaciones débiles.

SUR LA TENEUR DES VINS EN RÉDUCTONES NATURELLES ET LEUR INFLUENCE

F. PAUL

Station supérieure de Recherches et d'Enseignement de Viticulture et d'Arboriculture, Klosterneuburg (Autriche)

Les problèmes concernant les processus d'oxydo-réduction dans le vin sont toujours d'un grand intérêt scientifique, parce qu'ils concernent des phénomènes fondamentaux de transformation, grâce auxquels le vin résulte tout naturellement du jus de raisin. Le processus de la fermentation alcoolique est également un phénomène d'oxydo-réduction, ou sommairement un phénomène de réduction, et les phénomènes qui le précèdent ou qui le suivent offrent également un très grand intérêt. Ils concernent précisément ces transformations chimiques qui présentent encore un assez profond mystère sur la matière du vin. Les techniciens en connaissent la somme sous le nom d'évolution, de maturation, de vieillissement du vin ; ils conditionnent pour une bonne partie ces caractéristiques organoleptiques que les spécialistes appellent le « caractère » du vin.

Pour le chimiste les choses ne sont pas aussi claires, car les recherches dans ce domaine soulèvent des difficultés considérables. Certes on sait aujourd'hui que les processus de la maturation et du vieillissement représentent en somme des phénomènes d'oxydation. Cependant on est encore loin de pouvoir décrire avec exactitude le détail des transformations. Les choses sont compliquées et confuses, d'autant plus qu'il ne s'agit pas d'une réaction unique ni d'une seule substance soumise à la transformation. Il s'agit plutôt d'une somme de constituants en partie inconnus, ou qui, pour le mieux, nous sont connus en raison de leurs propriétés organoleptiques.

Pour définir plus précisément ce groupe de substances, nous voudrions utiliser le terme de « Weingrundsubstanz » (substances fondamentales du caractère du vin, que nous traduirons plus libéralement par « substances vineuses »). Ce terme englobe toutes les substances du vin qui ne peuvent être analysées ou seulement de manière insuffisante, mais qui nous sont familières en raison de leur effet sur le goût et que tout simplement nous désignons par goût vineux. Ce sont des phénomènes rédox, pour parler d'une manière précise les relations d'échange entre l'oxygène de l'air et les substances vineuses et les transformations oxydatives de ces dernières, qui conditionnent finalement les propriétés gustatives fondamentales d'un vin. Les substances vineuses représentent par conséquent le facteur le plus important, à côté duquel les facteurs alcool, acidité et sucre jouent seulement un rôle secondaire ; ces derniers doivent seulement se trouver en équilibre harmonieux avec les substances vineuses.

La science s'efforce d'établir des méthodes analytiques pour saisir les transformations importantes de ces substances et avec l'aide de documents analytiques de caractériser objectivement les vins de manière plus proche et plus précise. Ce but est difficile, parce qu'il s'agit, répétons-le, de substances qui ne sont pas ou sont malaisément accessibles à l'analyse. Avec l'introduction des notions d'oxydo-réduction, de valeurs de rH et de l'ITT (« Indicator Time Test », indice de substances réductrices défini par le temps de décoloration du 2,6-dichlorophénolindophénol dans certaines conditions opératoires), il existe assurément une possibilité d'exprimer quelque chose sur le degré d'oxydation d'un vin.

Pourtant on a dû reconnaître qu'il n'existait aucune relation, contrairement à ce qu'on espérait au début, entre ces valeurs et le goût du vin, et que, dans le cas du vin comme auparavant dans le cas de la bière, on avait surestimé la signification des valeurs de rH et d'ITT. Dans la littérature récente on trouve des travaux qui s'occupent spécialement de ces problèmes. Certaines substances ou groupes de substances qui sont des constituants du caractère vineux y sont étudiées. Ainsi dans les travaux en langue allemande, KIELHÖFER s'est occupé des phénomènes d'oxydation de l'acide tartrique, qui doivent être selon l'opinion d'auteurs russes des processus importants contribuant à l'évolution du vin. De même on connaît les travaux de KIELHÖFER sur les phénomènes d'oxydation dans le vin, spécialement les observations sur les teneurs en oxygène dissous. D'autres auteurs ont publié des travaux sur les polyphénols, qui font également partie des « substances vineuses » et nous croyons pouvoir classer dans la même catégorie les recherches que nous avons effectuées sur les teneurs des vins en réductones naturelles. Ces dernières substances sont également des constituants des « substances vineuses » et ont certainement part à leurs transformations chimiques.

Nos recherches ne sont pas terminées, elles débutent encore. Cependant nous pensons qu'elles sont assez avancées pour pouvoir donner une image suffisante des teneurs en réductones et de leurs modifications, de même que du rôle et de l'importance de cette catégorie de corps.

SUR LES RÉDUCTONES (NOTION, DÉTERMINATION, IMPORTANCE)

Pour définir la notion de « réductones », on comprend sous ce terme des substances organiques, qui se distinguent par une fonction diénol. Cette fonction est deshydrogénée sous des influences oxydatives pour donner une fonction dicarbonyle ; cette substance présente donc des propriétés réductrices. Les réductones peuvent être aromatiques ou aliphatiques, ce qui est digne d'être mentionné, car dans la chimie du vin souvent seuls les polyphénols sont rapprochés de la notion de réductones. Malheureusement les réductones ne peuvent pas être saisies individuellement par l'analyse utilisant des méthodes oxydimétriques, mais comme des groupes de substances. Pour leur titrage, nous nous sommes servi de l'iodométrie, d'autant plus qu'elle est habituelle au chimiste du vin, qui l'utilise depuis longtemps pour le dosage de l'acide sulfureux dans les vins. Dans ce dosage les réductones sont déjà connues comme étant une cause d'erreur. Elles consomment de l'iode et sont comptées comme acide sulfureux.

En somme les substances en question constituent simplement un groupe de constituants du vin, consommant de l'iode, et qui se laissent facilement déterminer par la méthode décrite pour le dosage de l'acide ascorbique par KIELHÖFER et AUMANN.

Avec l'orientation actuelle du goût qui domine dans les régions septentrionales, une importance doit être déjà attribuée dès le début aux substances réductrices du vin. Nous avons conduit cette étude parce que nous avions l'impression que les sub-

stances causes d'erreurs dans la détermination de l'acide sulfureux étaient justement les plus abondantes dans les vins de qualité remarquable. Nous avions de même observé que les réductones exercaient une influence sur l'utilisation de l'acide sulfureux, à laquelle est attribuée également un effet améliorant. L'application des substances réductrices joue un rôle déterminant, depuis l'entrée en vigueur des nouvelles lois sur le vin en Autriche permettant l'emploi de l'acide ascorbique à côté de celui de l'acide sulfureux, parce qu'on a l'expérience empirique que les vins autrichiens réussissent le mieux dans des conditions fortement réductrices. Si l'on juge l'effet de l'acide sulfureux dans les vins principalement du point de vue organoleptique, on constate analytiquement une influence sur la teneur en réductones.

Résultats de recherches personnelles

Nous nous sommes proposé comme but d'observer la teneur en réductones au cours de la transformation du raisin en vin et par la mise en place d'expériences et de comparaisons convenables, de conclure sur l'importance de ces substances. D'après les points de vue valables actuellement pour la production de vins ayant un arôme jeune et fruité, l'emploi de l'acide sulfureux est indispensable à la vendange, dans le moût et après la fin de la fermentation dans le vin fait. Si l'on observe à cette occasion les modifications des teneurs en réductones, on constate que celles-ci subissent une augmentation, seulement minime dans le vin, mais qui s'exprime plus nettement dans la vendange. Ce n'était là qu'une observation initiale, mais déjà elle montrait une direction : si une teneur élevée en réductone est recherchée, on doit alors envisager un traitement de la vendange à l'acide sulfureux. Si, selon une opinion répandue, le sulfitage de la vendange est surtout effectué dans la pratique à cause de son action biologique et améliorante du goût, il a un effet supplémentaire en élevant la teneur en réductones. Ainsi au cours de nos observations, se posaient des questions initiales en rapport avec le traitement de la vendange et la teneur la plus élevée possible en réductones.

Pour nous représenter quelle quantité de réductones existe naturellement dans la vendange et dans quelle mesure cette teneur peut être augmentée par une addition d'acide sulfureux, nous avons étudié des vendanges de différents cépages, comme elles arrivaient au cours de la récolte dans la cave de notre Institut à Klosterneuburg. Les teneurs en réductones ainsi obtenues dans ces vendanges d'origine connue variaient entre 10 et 32 mg par litre, exprimées en acide ascorbique, et ne laissaient pas apparaître, comme c'était à prévoir, de relation avec la nature du cépage. L'augmentation de la teneur en réductones obtenue par addition d'acide sulfureux se montrait également très différente. Elle se montrait en moyenne environ du double ; dans les cas les plus faibles, elle pouvait être d'une fois et demie, mais dans quelques cas individuels une augmentation de plus de trois fois a été observée. Pour voir s'il existe un rapport avec la quantité d'acide sulfureux ajoutée, on a divisé en parties égales de la vendange foulée uniformisée et on a traité chaque lot avec des quantités croissantes d'acide sulfureux, 0, 50, 100 et 150 mg par litre ; on a déterminé la teneur en réductones de chaque fraction. Les résultats obtenus ont montré que déjà avec 50 mg par litre d'acide sulfureux la valeur maximale en réductones était atteinte et qu'elle ne s'élevait pas par une addition plus forte d'acide sulfureux. Toutefois cette addition de 50 mg d'acide sulfureux se montrait par la suite insuffisante pour la vinification, parce qu'elle était utilisée rapidement et en totalité dans la vendange, et aussi parce que la teneur en réductones diminuait sous les influences oxydatives. Dans tous les cas examinés, un sulfitage avec 100 mg par litre s'est montré suffisant, sans être trop élevé. Cette dose présente l'avantage de laisser encore assez d'acide

sulfureux dans le moût, sans nouvelle addition, et ainsi d'un côté de maintenir le taux de réductones atteint, et d'un autre côté de protéger le moût du brunissement.

L'opinion est assez courante entre praticiens que l'on obtient un meilleur rendement des substances de l'arôme en laissant reposer la vendange foulée ; c'est pour cette raison que l'exigence considérée aujourd'hui comme classique d'une mise en œuvre rapide et immédiate de la vendange n'est pas toujours respectée dans la pratique. Comme du côté scientifique les substances réductrices n'étaient pas volontiers associées aux substances de l'arôme, il était intéressant d'établir un plan de recherche sur ce sujet. Le résultat obtenu fut cependant décevant, car pendant les premières 24 heures de repos, la teneur en réductones de la vendange n'a pas changé. Malheureusement cette observation a été faite au laboratoire sur des petits échantillons de vendange dont on n'a pas poursuivi le traitement, de telle façon que la question de savoir si effectivement par repos de la vendange on obtient un arôme plus intense, n'a pas été examinée de plus près.

Les différentes fractions du moût, c'est-à-dire les moûts d'égouttage, de pressurage, de rebêche, ont été également analysés à ce point de vue ; des différences auraient pu être attendues particulièrement entre le moût d'égouttage s'écoulant sans pression et le moût de presse séparé sous forte pression. On n'observa aucune différence, même dans la rebêche, connue pour sa richesse en tanins et en polyphénols, substances consommant elles-mêmes de l'iode.

Influence des bourbes sur la teneur en réductones

S'il a pu être démontré à l'aide des résultats antérieurs que la simple addition d'acide sulfureux à la vendange produisait une élévation de la teneur en réductones, il n'a pas été difficile de reconnaître au cours d'autres recherches que les bourbes provenant des baies de raisin jouaient un rôle important. Les bourbes sont naturellement surtout plus importantes dans la vendange foulée que dans le moût ou que dans le vin ; c'est la raison pour laquelle on trouve dans la vendange les taux de réductones les plus élevés.

Si un moût fraîchement obtenu, dans lequel se trouve en suspension, toujours plus ou moins de pulpe finement moulue, est titré, on observe une consommation déterminée en iode, le plus souvent considérable ; si le moût est clarifié avant le titrage, c'est-à-dire débarrassé de ses bourbes, cette consommation est beaucoup plus faible. Cette observation donnerait à penser que le traitement de la vendange au moyen d'acide sulfureux est sans intérêt, puisque la teneur en réductones retombe de toute façon à un minimum, grâce à la séparation des bourbes au cours du débourbage ou à plus forte raison au cours de la clarification spontanée ou artificielle des vins jeunes.

Pourtant cette crainte s'est montrée injustifiée, parce que précisément l'effet de l'acide sulfureux s'est montré positif. En effet si les bourbes avant leur séparation ont été en contact avec l'acide sulfureux, on observe également dans le moût clarifié une teneur plus élevée en réductones naturelles.

Ces faits s'expliqueraient en admettant que les réductones dans les substances solides des bourbes sont vraisemblablement localisées dans les cellules de la pulpe. Ou bien elles existent déjà dans le fruit, ou bien elles sont perdues au cours des transformations techniques de la vendange, toujours liées à une forte aération ; elle s'oxydent en effet en partie ou complètement, et sous cette forme sont peu solubles ou insolubles, et sont séparées après sédimentation et soutirage des bourbes. Avec leur passage de la forme mono ou diénol à la forme hydroxyle avec l'aide de l'acide sulfureux, il apparaît compréhensible qu'elles prennent un caractère hydrophile et en-

TABLEAU 1

Influence des bourbes sur la teneur en réductones dans le moût d'une vendange sulfitée ou non

	Moût I Vendange non sulfitée		Moût II Vendange sulfitée	
	Trouble	Limpide	Trouble	Limpide
Aussitôt après pressurage Teneur en réductones	27-27	14* 13**	49	47*
Teneur en SO_2	0/0/0	0/0/0	19/46/65	19/46/65
Après addition de 50 mg de SO_2 au moût Teneur en réductones	31-30	13	48-49	41**

* Clarifié par sédimentation.
** Clarifié par filtration sur plaques Seitz-US.

trent plus facilement en solution, de telle façon qu'elles sont aussi mises en évidence dans les moûts clarifiés.

Tant qu'elles ne subissent pas de dommages par oxydation en raison du manque de substances réductrices ajoutées (acide sulfureux), elles peuvent être conservées intégralement jusqu'au vin fait. Puisqu'il était devenu évident que les bourbes ont une importance décisive sur le taux des réductones, il fallait également examiner la dépendance de ce taux avec la constitution des bourbes. Pour cela on a mis en train une série de détermination des réductones effectuées au cours de la maturation du raisin. A cet effet, les échantillons de raisins étaient foulés à la main, plus exactement écrasés dans un bécher à forte paroi à l'aide d'un pilon en bois, et analysés périodiquement jusqu'à ce qu'on reconnaisse que la répartition des résultats dépendait de l'état de la vendange foulée. Les valeurs de réductones étaient plus élevées dans la vendange la plus finement écrasée ; au contraire elles étaient plus basses dans la vendange grossièrement foulée.

Des particules de pulpe plus petites et par là même plus nombreuses donnent par conséquent l'extraction des réductones la meilleure, ce qui est compréhensible, la surface de réaction avec l'acide sulfureux et le passage des réductones à l'état dissous étant notablement plus grand.

TABLEAU 2

Dépendance des teneurs en réductones de l'état de division des bourbes

	Vendange fortement foulée (beaucoup de bourbes fines)		Vendange faiblement foulée (peu de bourbes grossières)	
	Témoin	+ SO_2	Témoin	+ SO_2
Taux des réductones	32	46	14	27

Relations entre le taux des réductones et les qualités organoleptiques des vins

Il est vraisemblable que les réductones se trouvent en rapport avec les qualités gustatives des vins, puisque l'expérience montre que d'une part, des vins plus fruités résultent de vendanges sulfitées, et que d'autre part ces vendanges sulfitées sont plus riches en réductones. Si cependant cette relation existe, cela ne peut pas s'affirmer sans autres études, car l'observation à la fois d'une teneur élevée en réductones et de meilleurs caractères gustatifs ne prouve pas l'identité des réductones avec les substances de l'arôme.

Toutefois, à cause de l'absence de méthodes analytiques utilisables, on ne peut conduire de semblables recherches autrement qu'en comparant avec leurs témoins des vins obtenus avec des teneurs élevées en réductones.

En se basant sur d'assez nombreuses analyses réalisées aussi bien au laboratoire qu'à l'échelle de la grande technique, nous avons maintenant acquis l'opinion qu'effectivement les réductones ont une importance au point de vue organoleptique. Car dans la plupart des cas où à l'aide du sulfitage de la vendange on a pu obtenir une amélioration gustative des vins, ceux-ci avaient toujours également une teneur élevée en réductones. Sans doute il ne faut pas cacher qu'aucune relation quantitative n'a été établie. Plusieurs fois en effet en se basant sur la dégustation, on aurait pu attendre une teneur en réductones plus élevée, et par contre avec des taux élevés de réductones de légères insuffisances gustatives furent constatées.

Il se peut que les réductones n'aient pas dans tous les vins la même importance ; il doit peut-être être distingué entre un type de vins plus réducteurs, pour lesquels est recherché surtout le caractère fruité du cépage, et un type de vins plus oxydés, ayant un caractère de surmaturité plus ou moins marqué. L'effet sur le goût nous apparaît plus net spécialement dans les vins réducteurs, pour lesquels on pourrait avoir déjà l'impression que le sulfitage de la vendange retardait leur évolution et leur maturation. Nous devons reconnaître que nous n'avons pas assez d'expérience sur ces effets, pour pouvoir formuler un jugement définitif.

De même nous ne savons pas encore si les réductones ont également une importance pour les vins consommés après deux années ou davantage de conservation en bouteilles. Pour le cas d'un si long temps de maturation, il peut notamment se faire que les réductones exercent une influence désavantageuse ou soient encore sans aucune influence.

Conclusions

Si, d'après nos observations, on accorde aux réductones une influence positive et s'il apparaît qu'une teneur élevée en réductones soit souhaitable, on peut pour l'application à la vinification tirer des conclusions qui se résument de la façon suivante.

On adopte le principe d'un traitement de la vendange à l'acide sulfureux en quantité suffisante (100 mg par litre), bien réparti dans la vendange totale. Une importance considérable est accordée aux fractions de la pulpe ; au cours des opérations mécaniques de la vinification, les raisins après l'égrappage, devront être foulés le plus finement possible, sans cependant écraser les pépins et libérer leurs substances défavorables. Cette exigence pourra être satisfaite vraisemblablement par l'utilisation de cylindres en caoutchouc à la place des cylindres métalliques des fouloirs.

Dans le moût séparé et avant le commencement de la fermentation, on doit maintenir une teneur en acide sulfureux libre suffisante pour protéger les réductones contre des préjudices oxydatifs. Les bourbes en suspension, lorsqu'il s'agit des substances de la pulpe finement foulée, doivent être le moins possible séparées par le débourbage. Elles peuvent servir pendant la fermentation de « surface interne » et aussi peut-être fournir d'autres réductones ou des substances sapides. Dans aucun cas les bourbes légères ne peuvent avoir d'influence néfaste.

Après la fin de la fermentation, au moment où il ne reste plus d'acide sulfureux et où n'existe plus de protection de l'oxydation, il est indispensable, tout au moins pour les vins de type oxydatif, que le logement soit rempli très rapidement et tenu fermé. Egalement une nouvelle et prompte addition d'acide sulfureux protégera d'autant plus sûrement de l'oxydation. Les réductones seront conservées à la quantité atteinte jusqu'à la consommation du vin grâce à un niveau donné d'acide sulfureux, et exerceront une action favorable.

Résumé

L'auteur donne un aperçu général d'après ses propres recherches sur les teneurs en réductones naturelles et sur leur influence dans le vin. Un enrichissement en réductones est possible si la vendange foulée est traitée au moyen d'acide sulfureux (100 mg par litre). Cela explique que les réductones naturelles de la vendange non sulfitée sont oxydées, en partie ou complètement, et pour cette raison se présentent sous une forme peu soluble ; par contre elles sont transformées par l'acide sulfureux sous la forme hydroxyle et passent ainsi plus facilement de la phase solide à la phase liquide. Le traitement de la pulpe du fruit de la vendange exerce une influence essentielle ; sous la forme finement foulée, elle fournit des teneurs en réductones supérieures à celles obtenues lorsqu'elle est à l'état grossier, seulement peu écrasée. Comme les réductones paraissent avoir également des rapports positifs avec les propriétés organoleptiques des vins, une teneur élevée est donc souhaitable.

ABOUT THE CONTENT OF NATURAL REDUCTONES IN WINE AND THEIR INFLUENCE

F. PAUL

Summary

The autor gives a general idea, based upon his own research work, of the amount of natural reductones in wines and of their influence. The reductone content can be made larger if the crushed grapes are treated by means of sulfur dioxide (100 mg per liter). This is accounted for by the partial or complete oxidation of the natural reductones of the grapes which have not been treated with sulfur dioxide and for their occurring in a not very soluble form ; on the other hand, they are transformed by sulfur dioxide into a hydroxyl form and, thus, pass more easily from the solid to the liquid state. The influence of the various treatments undergone by the grape pulp is essential ; when finely crushed, it yields higher reductone contents than when it is in arrougher state, only slighty crushed. As there seem to be positive relations between the reductones and the organoleptic properties if wine, a high content of these is desirable.

ÜBER DEN GEHALT DES WEINES AN NATÜRLICHEN REDUKTONEN UND SEINE BEEINFLUSSUNG

F. PAUL

Zusammenfassung

An Hand eigener Untersuchungen wird ein Überblick über den Gehalt an natürlichen Reduktonen und deren Beeinflussung im Weine gegeben. Eine Anreicherung der Reduktone ist möglich, wenn Maische mittels schwefeliger Säure (100 mg/l SO_2) behandelt wird, was so erklärbar ist, dass die Reduktone in Original-Maischen in teilweiser oder ganz oxydierter und dadurch weniger löslicher Form vorliegen, wogegen sie durch schwefelige Säure in die Hydroxyl-Form übergeführt werden und damit leichter von der festen in die flüssige Phase übergehen. Einen wesentlichen Einfluss nimmt auch die Beschaffenheit des in der Maische vorliegenden Fruchtfleisches, welches in fein gemahlener Form höhere Reduktonwerte liefert als in grobem, nur wenig zerdrücktem Zustand. Da die Reduktone auch zu den organoleptischen Eingenschaften des Weines positive Beziehungen zu haben scheinen, ist ein höherer Gehalt umso erstrebenswerter.

SUL TENORE DEI VINI IN RIDUTTONI NATURALI E LORO INFLUENZA

F. PAUL

Riassunto

L'autore dà un compendio generale delle sue ricerche sul tenore in riduttoni naturali e sulla loro influenza nel vino. Un arricchimento in riduttoni è possible, se l'uva, pigiata, è trattata con acido solforoso (100 mg/litro). Questo fatto dimostra che i riduttoni naturali delle vendemmie non

solfitate, sono ossidati, in parte o completamente, e per questa ragione si presentano sotto una forma poco solubile ; essi sono invece trasformati dall'acido solforoso nella forma ossidrilica, e passano cosi più facilmente dalla fase solida alla fase liquida. Il trattamento della polpa del frutto durante l'ammostatura ha una influenza essenziale sul tenore in riduttoni : una pigiatura energica fornisce dei tenori in riduttoni superiori di una ammostatura leggera.

I riduttoni sembrano avere ugualmente dei rapporti positivi con le proprietà organolettiche dei vini : è dunque desiderabile che il loro tenore sia elevato.

SOBRE EL CONTENIDO DE LOS VINOS EN REDUCTONAS NATURALES Y SU INFLUENCIA

F. PAUL

RESUMEN

El autor da una idea general a partir de sus propias investigaciones, sobre los contenidos en reductonas naturales y sobre su influencia en el vino. Un aumento en reductona es posible si la vendimia pisada es tratada por medio del ácido sulfuroso (100 mg por litro). Esto explica que las réductonas naturales de la vendimia no sulfitada sean oxidadas, en parte o completamente, y por esta razón se presentan en una forma poco soluble ; por el contrario, se transforman con el ácido sulfuroso, bajo la forma hidroxilo y pasan asi más fácilmente de la fase sólida a la fase liquida. El tratamiento de la pulpa del fruto en la vendimia ejerce una influencia esencial ; bajo la forma finamente estrujada, proporciona contenidos en reductonas superiores a cuando se encuentra en estado grorero, poco estrujada. Como las reductonas parecen tener también relación positiva con las propiedades organolépticas de los vinos, un contenido elevado de las mismas es deseable.

DISCUSSION

M. FLANZY (Narbonne) : Ce mémoire est extrêmement important par les données fondamentales et pratiques qu'il apporte. Elles démontrent que le raisin contient des « réducteurs » aussi puissants que ceux qui nous ont été décrits jusqu'ici (acide sulfureux, acide ascorbique). Ces résultats sont bien confirmés par nos travaux à Narbonne.

INTERVENTION DE G. BRISSON-MEYTON

Ingénieur-Chimiste E.N.S.C.B., Sainte-Foy-la-Grande (France)

Vinification des cépages blancs du Bordelais et conservation avec mise en bouteilles sans addition d'anhydride sulfureux

Cette intervention concerne des résultats originaux et personnels. L'originalité réside dans la communication d'une expérience de vinification spéciale de moûts de cépages blancs du Bordelais, appliquée selon une œnotechnie décrite ci-dessous, sur une quantité de 2 500 hl, laquelle est à ma connaissance la plus importante pour la première fois ainsi mise en œuvre dans le Bordelais. Le but pratique a été d'éliminer, presque totalement, l'emploi de l'anhydride sulfureux, tout d'abord par application du froid pour le débourbage, ensuite par conservation en atmosphère réductrice du gaz carbonique de fermentation.

La personnalisation de cette communication réside dans le fait que la vinification a été conduite dans un domaine, dont l'auteur assure l'administration en copropriété. Ainsi le contrôle scientifique de l'opération est entier et a permis la mise en pratique parfaite et intégrale de la théorie. La complantation des vignobles du domaine est : Merlot blanc pour un tiers, Muscadelle pour un quart, Sémillon pour le solde.

La cueillette a débuté le 24 septembre 1962, après contrôle de maturité déterminant une présence d'acidité totale du moût se situant entre 7 et 8 g par litre. Les vendanges sont particulièrement saines et les grappes sont cueillies, transportées en hottes, puis tombereaux basculants jusqu'au cuvier, avec des soins permettant d'éviter au maximum l'éclatement des grains. L'organisation du cuvier est telle que la vendange bascule dans un conquet de réception s'écoulant sur foulopompe fonctionnant sous atmosphère inerte de gaz carbonique artificiel, entretenue par débit lent d'une bouteille sous pression. Ainsi dès l'instant où la pulpe est par éclatement libérée de la peau l'oxygène de l'air est absent du milieu gazeux. La masse pulpeuse est conduite par la tuyauterie du foulopompe dans un pressoir hydraulique, type Mabille tournant à trois cages. La cage de réception est surmontée et enveloppée d'une tente en tissu transparent plastique agricole, de forme conique, pointe vers le haut, enserrant la tuyauterie d'arrivée du foulopompe et maintenue à la base par un cercle de fer dont le poids assure l'étanchéité (par joint liquide du moût de raisin), permettant ainsi au gaz carbonique d'emplir en toute sécurité la tente et de constituer un milieu gazeux inerte, qui s'évacue par le haut au fur et à mesure que la masse pulpeuse emplit la cage de presse.

Cette cage étant emplie, la tente est rapidement enlevée, la cage tournante mise sous presse, et équipée d'une autre tente plastique cylindrique, maintenue à la base de la même façon, soutenue par le haut par un cercle fixe, le tout empli par un jet rapide et fort de gaz carbonique constituant l'atmosphère inerte qui aura éliminé toute présence d'oxygène durant les deux heures du pressurage.

Pendant ces deux opérations de foulage et de pressurage, les moûts de goutte et de première presse s'écoulent en caniveaux étanches qui conduisent à deux citernes souterraines de réception de 220 hl chacune, initialement emplies de gaz carbonique, lequel est au fur et à mesure chassé par l'arrivée des moûts.

Le débourbage de ces moûts est réalisé par l'abaissement de leur température de 25 ou 30 °C à 2 ou 3 °C, pendant quatre jours environ, au moyen d'un équipement frigorifique mobile d'une capacité de 20 000 frigories/heure, fonctionnant en entière automaticité par thermostat. Les moûts clairs sont décantés et envoyés dans la cuverie de fermentation : les bourbes grossières vont rejoindre les moûts de deuxième presse.

La deuxième phase de la vinification spéciale commence donc à partir de moûts clairs, débarrassés de leurs lies grossières et dont la température remonte jusqu'à la température idéale de fermentation à partir de laquelle la prolifération (jusqu'alors freinée) des levures, transforme avec une lenteur recherchée (six semaines) le moût en vin.

Chaque cuve de fermentation d'une capacité de 500 hl environ est équipée de façon à assurer une étanchéité complète au gaz carbonique sous légère pression, pendant toute la durée de la conservation (huit mois environ), par un système de soupape à clapet rôdé sur siège et maintenu par ressort taré à 200 g de pression de conservation, contrôlée par manomètre sensible. Le milieu en fermentation présentant seulement une dizaine de grammes de sucres résiduaires, le système de soupape est mis en jeu et, dès lors, le gaz carbonique se maintient dans le milieu sous pression du ressort taré, l'excès s'évacue par la soupape et finalement, dès la disparition de tout sucre résiduaire, le vin brut entre dans sa phase tranquille.

Cette troisième phase constitue l'affinage avant mise en bouteilles. Elle est conduite de telle façon que le vin, conservé sous les conditions énoncées plus haut, ne quitte jamais la cuve de fermentation initiale. On procède à l'abaissement de température jusqu'à — 3 °C pendant trois semaines environ, après addition de bentonite à raison de 20 g par hl et colle au sang à raison de 15 g par hl.

Dès la fin du mois de décembre 1962, une mise partielle en bouteilles a eu lieu avec filtration de finition sur plaques cellulose-amiante. En résumé, on obtient ainsi un vin blanc : très sec, de fraîche acidité, degré alcoolique 11° environ ; d'une limpidité blanc-vert que le temps ne ternit pas ; ne présentant que des traces d'anhydride sulfureux (13 mg d'acide sulfureux libre et 38 mg d'acide sulfureux total) ; assuré de sa conservation en bouteilles par le gaz carbonique originel et protecteur ; mis très jeune à la disposition du consommateur ; réalisant ainsi les conditions optimales sur le plan nutritif et alimentaire.

*
* *

M. D. Guillot de Suduiraut (Saint-Pierre-de-Mons, Gironde) rappelle que depuis quelques années des essais de pressurage de raisins blancs à l'abri complet de l'air sous atmosphère de gaz carbonique ont été effectués dans le cadre du Centre d'Etudes techniques agricoles de Langon, qui en a eu l'idée le premier. Les résultats ont été groupés dans une communication aux journées des C.E.T.A., février-mars 1962 (Etude n° 623) : « Utilisation du gaz carbonique pour lutter contre l'oxydation des vins blancs », dont voici les conclusions : ... « ces trois années de travail nous permettent de tirer des conclusions positives et nous dirons que l'emploi du gaz carbonique dans la vinification des vins blancs diminue l'oxydation — diminue le taux de combinaison de l'acide sulfureux — améliore les qualités gustatives en développant l'arôme ».

PHÉNOMÈNES D'OXYDO-RÉDUCTION EN RELATION AVEC LES PROBLÈMES DE LA CONSERVATION ET DE LA LIMPIDITÉ

I. MARECA CORTÉS

Chef du Laboratoire d'Œnologie du Département des Fermentations industrielles, Conseil supérieur des Recherches scientifiques, Madrid (Espagne)

« C'est l'oxygène qui fait le vin ; c'est par son influence qu'il vieillit ». Ces affirmations de Pasteur, contenues dans ses « Etudes sur le vin » peuvent cent ans après servir de point de départ pour exprimer avec précision la position actuelle des œnologues vis-à-vis du système air-vin, et pour passer en revue les travaux de recherche qui ont été faits depuis cette époque, sur un sujet très important parmi les phénomènes qui se produisent dans le vin. Elles seront surtout pour nous une heureuse occasion de présenter ce travail de mise au point, comme un modeste hommage à celui qui les a écrites et comme l'expression de notre gratitude au professeur RIBÉREAU-GAYON, l'organisateur de ce Symposium, pour sa flatteuse invitation comme rapporteur sur un sujet où il a lui-même donné des travaux universellement connus.

LE VIN, MILIEU D'OXYDO-RÉDUCTION

On a prouvé que le vin conservé en l'absence d'air, à une température fraîche et constante dans des récipients convenables, pleins et parfaitement fermés, ne s'altère généralement pas pendant un temps assez prolongé.

Au contraire, la présence de l'air le modifie. Le vin non seulement dissout l'oxygène comme un autre liquide, mais il le consomme. Le vin et le moût se comportent comme des réducteurs vis-à-vis de l'oxygène de l'air. C'est un fait général. Si l'oxygène produit des modifications dans le vin, il est intéressant de connaître sa forme d'assimilation, ses conditions, les constituants avec lesquels il réagit, les types de réactions, les procédés de contrôle, les résultats de son action, etc.

L'oxygène de l'air est un réactif permanent ; par sa condition de gaz ambiant il agit d'une manière persistante sur tout ce qui n'en est pas isolé. Ses effets dépendent seulement des circonstances qui interviennent dans la vitesse de combinaison.

Les phénomènes d'oxydo-réduction dans le vin sont très complexes. Toute la chimie et la physicochimie du vin, à cause de la composition variée de ce produit naturel, sont également très complexes. L'étude est encore plus difficile quand on passe au système air-vin, dans les conditions ambiantes ordinaires.

D'après WURMSER, on peut classer les systèmes rédox en trois catégories. Un

groupe comprend ceux qu'on peut contrôler directement par une électrode en métal inattaquable. D'autres systèmes rédox ont besoin pour se manifester de la présence dans le milieu lui-même d'un système du groupe précédent qui sert de catalyseur. Un troisième groupe est formé par les systèmes qui ne sont rédox qu'en présence de l'enzyme qui les active (1).

D'autre part, les systèmes rédox se classent par le potentiel qu'ils donnent à l'électrode en métal inattaquable en oxydants ou réducteurs des autres.

Le vin se modifie au contact de l'air. Il consomme de l'oxygène, il est réducteur par rapport à lui, il contient quelques constituants possédant cette propriété. Le vin consomme aussi de l'iode dans les conditions normales et réduit le fer-III en l'absence d'air et plus difficilement le cuivre-II.

Dans le vin on peut mesurer, en prenant quelques précautions, un potentiel rédox qui donne un niveau en rapport avec ses propriétés réductrices. Les mesures de potentiel rédox des vins se situent entre certaines limites. Par une aération passagère, le potentiel rédox passe de la limite inférieure à la limite supérieure, pour retourner à la valeur originale en l'absence d'air.

Tous les vins réduisent la solution d'iode. Un volume de vin consomme un certain volume d'une solution d'iode ; après quelque temps il réduit à nouveau un autre volume plus petit, et ce fait va se répéter. La consommation d'iode et le nombre de fois que le vin décolore à nouveau le réactif sont des caractéristiques de chaque vin (2).

Un potentiel rédox bas est le signe d'un état actuel de réduction pour les systèmes rédox du vin. La volumétrie avec l'iode, l'indice de permanganate, et l'I.T.T. (Indicator Time Test, voir p. 172) donne une indication sur le pouvoir de récupération du vin à compenser les effets d'une aération. Ils mesurent une capacité de réduction.

Les effets définitifs de l'aération dans les vins sont différents, selon les circonstances. Un apport continu et limité d'oxygène agit autrement qu'un large contact permanent. La température à laquelle la combinaison se réalise est une donnée fondamentale dans le contrôle des résultats. Une température plus ou moins élevée pendant le phénomène produit une différence considérable dans les effets. Avec une élévation de température il ne se produit pas seulement une augmentation générale des vitesses d'oxydation, mais de plus, tout se passe comme si les vitesses d'oxydation des divers composés réducteurs se différenciaient selon les variations de température. Ils apparaissent ainsi comme des phénomènes différents, avec des effets distincts, comme si des composés différents s'oxydaient à des températures différentes. Quand on considère les divers phénomènes qui se produisent dans les vins, en vue de la recherche d'une explication générale, d'une sorte de loi qui les contrôlerait, il est facile de trouver des faits contradictoires, au moins en apparence. PASTEUR formula ses affirmations en contradiction avec BERTHELOT, qui trouvait l'oxygène plutôt nuisible pour le vin. Dans la pratique des chais, on essaie de travailler à l'abri de l'air, on utilise des récipients pleins et fermés, on applique des produits antioxydants. Cependant sans l'air, les levures ne se développeraient pas, et on n'obtiendrait pas de vin ; les meilleurs vins rouges ont une période de maturation en récipient de bois, avec des soutirages, ce qui implique l'intervention de l'oxygène.

PHÉNOMÈNES RÉDOX DANS LES CASSES MÉTALLIQUES

Les altérations dites casses ferriques, dues à l'insolubilisation du fer, se produisent souvent dans les vins blancs, et moins dans les rouges ; elles interviennent

toujours après une aération. Le trouble peut disparaître si on maintient le vin cassé à l'abri de l'air, ou si on fait une petite addition d'un réducteur fort, comme une solution d'hydrosulfite de sodium.

La casse blanche est un trouble d'évolution colloïdale, assez lente au début de la formation ; elle est produite fondamentalement par du phosphate ferrique insoluble. Le fer ferrique peut aussi former un complexe avec les matières tannoïdes ; il se produit d'abord une augmentation de la couleur dans le vin rouge et ensuite un phénomène colloïdal terminé par une floculation. C'est la casse bleue, moins fréquente que la blanche, particulière aux vins rouges, mais qui peut se présenter d'une façon partielle, à côté de la casse blanche, dans les vins blancs (3).

On sait que les dépôts et les troubles des casses, dites ferriques, ont à la base de leur composition le fer ferrique. Ils se produisent dans un état d'oxydation du vin, après une aération. Ils ont tendance à disparaître quand on place le vin altéré à l'abri de l'air. JOSLYN et LUKTON (4) ont mesuré la variation du potentiel rédox du vin pendant le processus de formation et de dissolution d'une casse blanche. Après un contact du vin avec l'air, il se produit une élévation du potentiel rédox et il y a aussi une augmentation de la concentration du fer ferrique par diminution de la teneur en fer ferreux. Si par la suite, le vin est replacé à l'abri de l'air, c'est le contraire qui se produit. La présence de cuivre à des concentrations de l'ordre d'un milligramme par litre peut favoriser l'apparition de la casse ; il catalyse la formation du fer ferrique. L'action de la lumière solaire sur le vin à l'abri de l'air fait disparaître le trouble ferrique. GARINO-CANINA et SCHANDERL ont observé une diminution du potentiel rédox du vin soumis à la lumière solaire.

Mais la casse ferrique ne se produit pas toutes les fois que le vin est en état d'oxydation, que son potentiel rédox s'élève. Pour que le trouble apparaisse, il faut le concours de plusieurs circonstances. Surtout, il y a une concentration critique du fer total pour laquelle on donne des valeurs de 1 à 25 mg par litre avec une moyenne plus fréquente de 10 mg par litre, au-dessous de laquelle l'insolubilisation est difficile. Ainsi donc, une façon simple et efficace de résoudre ce problème est d'éviter la dissolution du fer dans le vin, ou d'en éliminer l'excès. Si on maintient la concentration de cuivre au minimum, le résultat sera plus sûr.

Quand, dans l'industrie américaine du vin, se répandit la tendance à remplacer dans les installations le fer par le cuivre afin d'éviter les altérations dues à un excès de fer dissous, et qu'en même temps on intensifia les mises en bouteilles du vin, le problème de la casse cuivrique se présenta avec acuité. C'est une perte du brillant, un léger trouble qui se dépose lentement en un sédiment brun rougeâtre ; il se produit quelquefois dans des vins blancs avec acide sulfureux libre et une petite concentration en cuivre, après un certain temps de conservation à l'abri de l'air, en bouteille par exemple. En aérant le vin, le trouble et le dépôt disparaissent en quelques heures ou en quelques jours. L'élévation de température facilite ce phénomène, et la lumière solaire l'accélère.

Un séjour à l'abri de l'air, c'est-à-dire un état de réduction, est indispensable pour l'apparition de ce trouble. La casse cuivrique et l'état de réduction se réalisent, tous deux, par exposition à la lumière.

En 1931 RIBÉREAU-GAYON (3) découvrit la cause de ce phénomène. Il s'agit d'une insolubilisation colloïdale de cuivre plus ou moins sulfuré, lié en général à une floculation de protéines. Elle se produit à un potentiel rédox bas ; le sulfite est réduit en sulfure sous l'action du cuivre qui se trouve au début sous forme cuivreuse. Le fer qui se réduit avant le cuivre, catalyse ce processus.

Lukton et Joslyn (8) en observant la diffraction aux rayons X d'un dépôt purifié de casse cuivrique, trouvent des sulfures cuivriques et cuivreux. Par désagrégation avec de la soude et électrophorèse sur papier, ils ont trouvé que le cuivre est combiné et non pas mélangé avec la protéine. Peterson, Joslyn et Durbin (7) provoquent une casse cuivrique dans un vin riche en cuivre, en ajoutant un sulfite avec du soufre marqué. A la lumière, le soufre marqué apparaît comme un sulfure insolubilisé à côté du cuivre et de la protéine. Dans l'obscurité, le soufre insolubilisé provient d'une dénaturation des protéines. Joslyn et Lukton (9) étudient la variation simultanée du potentiel rédox et le degré de trouble correspondant aux processus d'apparition et disparition de la casse cuivrique dans du vin. Avec 0,5 mg de cuivre par litre, le trouble n'est pas perceptible. Le phénomène est positif avec 3 mg de cuivre par litre et à pH 3,3. En même temps que le potentiel diminue d'une façon progressive, le trouble augmente dans la même proportion et inversement. Les deux courbes qui suivent au cours du temps la formation de la casse cuivrique (potentiel et trouble) présentent une inflexion pour 295 mV, où commence le trouble. Les chercheurs trouvent une variation de ce potentiel critique en fonction du pH dont l'effet est très sensible entre 2,5 et 5,0 avec une diminution de 69 mV par unité supplémentaire. L'élévation de température accélère d'une manière remarquable la diminution du potentiel et le processus du trouble, ce qu'on montre en comparant les phénomènes à 22 ° et 45 °C. Il faut aussi remarquer l'accélération par la lumière solaire de la diminution du potentiel et de l'apparition du trouble. Cette accélération peut être provoquée par catalyse ou par un phénomène photochimique.

Mais comme dans le cas du fer, où il ne suffit pas de l'existence d'un état rédox pour provoquer un trouble, dans le cas du cuivre, il ne suffit pas de l'existence d'un état de réduction pour qu'apparaisse la casse ; plusieurs circonstances doivent se présenter pour que le trouble se produise et en premier lieu, comme dans le cas du fer, il suffit d'éviter la dissolution du cuivre ou d'en éliminer l'excès, par rapport à une concentration critique, pour obtenir la stabilisation des vins vis-à-vis de ce trouble.

Modifications de la couleur des vins blancs ou rouges

La conservation des vins, comme celle de tous les dérivés des fruits, en plus des dangers de perte de brillant ou de formation de trouble, entraîne aussi le risque de la modification de leur couleur en intensité et en tonalité. Les couleurs les plus fréquentes de ces produits sont rouges et jaunes. Les couleurs jaunes, avec le temps, augmentent en intensité et brunissent. C'est un problème technique de maintien de la qualité que d'assurer la permanence de colorations faibles et pâles. Les vins blancs sans protection, en récipients de bois, voient s'intensifier leur couleur avec le temps.

Berg et Akiyoshi (10) ont étudié le brunissement des vins blancs en considérant l'effet de plusieurs facteurs. Ils ont mesuré des vitesses de brunissement, par exemple le temps nécessaire pour que la densité optique mesurée à 450 ou 440 mμ augmente de 0,150. Ils ont trouvé que l'action de l'oxygène est importante dans le brunissement. Dans des expériences faites à 45 °C, la vitesse de brunissement augmente beaucoup pour de petites augmentations de la concentration d'oxygène dans le vin embouteillé, quand cette concentration est faible. Avec des concentrations plus grandes, cette vitesse ne se modifie pratiquement pas, si l'on maintient constants d'autres facteurs comme la température et le pH.

En présence d'une grande concentration en oxygène, une élévation de la température de conservation entre 20 °C et 55 °C accélère le phénomène. Cette accélération n'est pas la même pour des vins différents, provenant de raisins différents. En plus, l'accélération, dans les mêmes conditions, est moins forte entre 35 °C et 45 °C qu'entre 20 °C et 35 °C, ce qui a suggéré aux auteurs l'existence de substances qui réagissent à différents degrés à hautes et basses températures. Egalement, à une température de 48,9 °C, avec une grande concentration d'oxygène et en modifiant le pH des vins, on peut fortement intensifier la couleur, en élevant le pH de 2,8 à 4,2. Cependant, le contrôle du pH ne sert pas pour limiter le brunissement. Le fer et le cuivre catalysent l'augmentation de la couleur des vins blancs aérés. L'anhydride sulfureux inhibe l'oxydation ; il réduit l'intensité de la réaction.

D'après PONTING (11), il suffit de chauffer un produit de fruit à 90 °C pendant 8 s pour rendre inactive pratiquement la totalité de la polyphénoloxydase. Probablement le traitement de BERG et AKIYOSHI (ébullition pendant 20 mn) est excessif, et donne des vins qui brunissent un peu plus facilement que ceux qui n'ont pas été traités, avec formation possible de précurseurs du brunissement. Le chauffage des moûts ou des vins à l'air a toujours produit une couleur, un arôme et une saveur caractéristiques, dits de « cuit ». Pour avoir un jus de raisin d'une nuance très pâle et d'un arôme frais, PONTING opère avec le raisin réfrigéré, sous azote, il applique immédiatement un « chauffage éclair » pour rendre inactive la polyphénoloxydase, et réfrigère à nouveau.

La polyphénoloxydase est inhibée par réaction avec l'anhydride sulfureux et inactivée par la chaleur. L'acide ascorbique réduit les produits oxydés à l'air avec le concours de l'enzyme.

Un cas particulier d'intervention de la polyphénoloxydase réside dans la casse brune ou oxydasique. Elle se présente en général dans les vins issus de raisins attaqués par la pourriture. Les vins rouges, laissés à l'air, se troublent, puis abandonnent un dépôt de matière colorante. Ils prennent alors un goût, un arôme et une couleur de rancio, de cuit. Dans le cas des vins blancs le phénomène ne dépasse pas ordinairement un brunissement accusé, et une modification d'arôme et de goût.

La couleur des vins rouges varie par un processus naturel de vieillissement, en perdant de l'intensité et en changeant de teinte, laquelle passe du rouge violacé au rouge brique. Elle s'insolubilise constamment, même dans les vins rouges de la meilleure qualité, qui sont conservés en récipients de bois. Dans ces vins l'indice de permanganate diminue en fonction du temps, ainsi que la consommation de réactif dans une iodométrie potentiométrique et l'indice de méthoxyle. La matière colorante des vins rouges se modifie grandement depuis le moment où elle est extraite des pellicules du raisin, passe par la fermentation jusqu'à ce qu'elle arrive au vin vieux. Cette modification est prouvée par la diminution de sa capacité à former des picrates et par la difficulté croissante pour obtenir des taches distinctes par chromatographie (12).

J. RIBÉREAU-GAYON et GARDRAT (13), utilisant la volumétrie potentiométrique, ont caractérisé le chlorure d'anthocyanine comme un système rédox n'ayant pas besoin de catalyseur. Un vin rouge consomme une plus grande quantité de solution d'iode qu'un vin blanc et la consommation d'un vin rouge est d'autant plus grande que sa couleur est plus intense. Mais les anthocyannes qui donnent leur couleur aux vins rouges, ne réagissent pas seulement comme des réducteurs. Elles se combinent par exemple avec l'aldéhyde et avec l'acide sulfureux.

Au cours du vieillissement naturel d'un vin rouge, on observe une diminution progressive du maximum caractéristique des anthocyannes, aux environs de 525 mμ

de la courbe spectrophotométrique. D'autre part, les courbes des vins rouges se différencient d'une façon fondamentale de celles qu'on obtient avec des solutions pures d'anthocyannes. Les premières ne présentent pas la dépression dans la densité optique, comme les dernières dans la zone 320-450 mμ. Le spectrophotogramme d'un vin rouge tend à ressembler de plus en plus au cours du vieillissement très prolongé à celui d'un vin blanc vieilli. MARECA et ARTACHO ont trouvé la dépression propre aux anthocyannes, en utilisant un vin blanc comme étalon dans la spectrophotométrie d'un vin rouge.

Au cours du vieillissement d'un vin rouge, pendant lequel se produisent entre autres réactions, des oxydations par l'air, interviennent une insolubilisation des anthocyannes et un brunissement des flavones. L'insolubilisation des anthocyannes peut être en relation avec la diminution de l'indice de méthoxyle.

Etant donné toutes les différences que l'on peut trouver dans les intensités d'aération, les températures de conservation, les pH des milieux, la qualité des raisins utilisés en vinification, l'emploi de l'acide sulfureux dans la technique des chais, tous facteurs qui, on l'a vu, interviennent dans le brunissement des vins blancs, il n'est pas difficile de trouver quelque relation entre les différents types de vins vieux, rouges de Bordeaux ou de Rioja, rouges « rancios » d'Aragon ou rancios blancs « olorosos » de Jerez, par exemple.

AUTRES PHÉNOMÈNES NON RÉDOX DANS CES ALTÉRATIONS

Cependant, bien qu'une réaction d'oxydo-réduction se produise dans chacun des phénomènes indiqués, la réaction rédox ne suffit pas pour que l'effet se produise. Pour qu'une casse ferrique ou cuivrique ait lieu, en plus d'une concentration suffisante de tous les constituants du composé qui s'insolubilise, et de l'état rédox correspondant, il faut des conditions favorables à l'évolution colloïdale, température et pH appropriés, absence de colloïdes protecteurs et présence de substances floculantes. La formation de complexes peu dissociés du fer ferrique s'oppose souvent à l'apparition de la casse ferrique, ou tout au moins diminue son intensité. Beaucoup de troubles ou dépôts non microbiens des vins sont des floculations colloïdales ; pour que le phénomène soit visible, lorsque les premières particules formées atteignent les dimensions propres à l'état colloïdal, il leur faut des circonstances favorables pour évoluer vers la floculation.

Il se produit une insolubilisation d'anthocyannes par combinaison avec l'aldéhyde ; ce phénomène est particulièrement intense dans le développement de levures à voile dans les vins rouges avec une forte production d'aldéhyde. Cette formation s'effectue en milieu réducteur. La présence des levures est toujours accompagnée d'un potentiel rédox bas. SCHANDERL a trouvé une amélioration de la qualité, de l'arôme et du goût des vins clarifiés grâce à une masse de levures qui abaissent le potentiel rédox. Le vin « fino » de Jerez est blanc, pâle, avec beaucoup d'aldéhyde produite par des levures à voile ; il n'a pas les caractéristiques du rancio. Son potentiel rédox bas est peut-être dû à la présence récente de levures. Par contre, il se produit une insolubilisation de colorant et un brunissement des jus de raisins rosés, avec une forte madérisation.

Le brunissement de la couleur peut être dû en partie à des réactions analogues à celles de Maillard, entre les acides aminés et le glucose, qui à l'état de traces, peut toujours être présent dans le vin, même si c'est seulement à la suite d'une hydrolyse de glucosides. Cette réaction est aussi favorisée par une température élevée de conservation.

L'acide sulfureux, antioxydant classique, qui protège par son passage au sulfate, agit aussi en se combinant à la fonction carbonyle, à l'aldéhyde et aux sucres, en formant des composés incolores avec les anthocyannes ; il se combine avec la polyphénoloxydase et l'inhibe.

D'après GEISSMAN [12] et d'autres, il semble que la formation de complexes colorés entre les tannoïdes et les métaux dissous, et en particulier le fer, se produise seulement quand les groupements OH se trouvent en position ortho, ou quand un OH et une fonction cétone se trouvent à côté. Cette circonstance n'existe pas dans les anthocyannes, et les élimine du mécanisme de la formation de la casse ferrique et de la dissimulation du fer ferrique qui abaisse la concentration réelle du fer dans la casse blanche ; en général, elle réduit les possibilités d'insolubilisation non oxydante des anthocyannes.

POUR UNE THÉORIE DE L'OXYDO-RÉDUCTION DANS LES VINS

La combinaison de l'oxygène, qui se dissout et produit des effets qui modifient sensiblement la composition et les caractères organoleptiques, n'est pas particulière au vin. Dans la bière, le cidre, et les jus de fruits, apparaissent des altérations provoquées par le même agent, avec des nuances particulières dans chaque produit. Il est important de rappeler ici les travaux de recherche destinés à connaître et prévoir, diriger ou éviter ces phénomènes ; travaux de GELOSO, RIBÉREAU-GAYON, GARINO-CANINA, JOSLYN, DEIBNER, ALMEIDA, SCHANDERL, KOCH, KIELHÖFER, RENTSCHLER et TANNER, CANALS et BAYLET, GRAFF, CERUTTI en œnologie ; de CHAPON et URION, de GRAY et STONE en brasserie, de CREFF en cidrerie, entre autres. Les études sont nombreuses, il est difficile de les résumer et de donner des conclusions définitives, concrètes et pratiques. Sans aucun doute, il est très utile de faire des comparaisons entre les résultats obtenus avec des produits qui, bien que différents, ont beaucoup en commun.

CHAPON, URION et leurs collaborateurs (14) ont étudié systématiquement l'oxydation de la bière, qui donne lieu à des troubles particuliers à cette boisson. Dans une expérimentation simplifiée, ils utilisent du 2,6-dichlorophénolindophénol comme oxydant pour remplacer l'oxygène et se servent de l'acide ascorbique comme substrat catalytiquement oxydable par l'oxygène.

L'étude comparative faite par URION, CHAPON et CREFF (15) sur l'oxydation de la bière et des jus de fruits est très intéressante et peut être utile pour essayer de trouver une explication aux phénomènes rédox du vin. Dans les jus, tout d'abord, il se produit une oxydation des polyphénols en quinones, plus ou moins intense selon la concentration en polyphénoloxydase. Les quinones formées, si elles ne sont pas réduites plus tard par une substance à structure de réductone, comme l'acide ascorbique, se polymérisent, en donnant des effets qui commencent par un brunissement. Ce résultat, oxydation irréversible définitive, est plus ou moins important selon la concentration du liquide en polyphénoloxydase et en réductones ; c'est ainsi que se différencient les produits de cette nature.

Les auteurs décrivent une expérience significative avec du jus d'orange : « Des bouteilles de jus d'orange gazéifié avaient été prélevées à la soutireuse avec des volumes d'air dans le col, essentiellement différents, allant de 5 à 27 ml. Après des temps de conservation de l'ordre de deux mois, dans les conditions du laboratoire, ces jus furent étudiés pour leur pouvoir réducteur sur le 2,6-dichlorophénolindophénol, leur teneur en oxygène, leur goût. Les résultats furent extrêmement nets. Dans

tous les cas, l'oxygène avait pratiquement disparu. La quantité de substances réductrices à action rapide sur le 2,6-dichlorophénolindophénol était d'autant plus réduite que le volume d'air du col était plus grand, mais il en restait encore même dans les échantillons les plus oxygénés. Les dégustations effectuées par un certain nombre de personnes non prévenues furent remarquablement concordantes ; le goût était franc dans les bouteilles renfermant à l'origine le minimum d'air, alors que, dans toutes celles qui présentaient un vide important, on décelait immédiatement un très net goût de rance ».

L'acide ascorbique s'oxyde en présence de cuivre. Le cuivre, oxydé par l'oxygène de l'air, oxyde à son tour l'acide ascorbique, et cela se produit de la même manière avec d'autres substances auto-oxydables. Alors, le cuivre se réduit. On évite de cette façon l'oxydation d'autres constituants des produits alimentaires avec des effets sensibles. L'acide sulfureux exerce également son action antioxydante par une autooxydation catalytique semblable. Le processus rédox complet des catalyseurs métalliques comprend leur passage de la forme réduite à la forme oxydée, par l'oxygène de l'air. Ici les auteurs cités on trouvé un fait très intéressant, qui peut expliquer certains effets difficiles à comprendre de l'oxydation des produits naturels : la consommation d'oxygène supérieure à celle qui correspondrait à la totalité de l'acide ascorbique existant dans le jus d'orange, étudiée par Eddy (16), et aussi les effets nuisibles propres à une oxydation, des produits protégés par des substances antioxydantes comme l'acide sulfureux et l'acide ascorbique. Des faits semblables se produisent souvent dans les vins ; les vins blancs brunissent avec le temps, s'ils sont conservés en récipient de bois avec une aération limitée, même en présence d'acide sulfureux libre. D'après les mêmes auteurs, pour l'oxydation des catalyseurs métalliques, la consommation d'oxygène est le double de la valeur théorique calculée pour cette réaction. Il se produit une oxydation couplée d'une substance non auto-oxydable, par exemple un sucre ou un alcool. De sorte que la moitié seulement de l'oxygène consommé par un produit naturel oxydable est éliminée par les additifs antioxydants, et que l'autre moitié agit sans qu'on puisse l'éviter.

Les catalyseurs métalliques ordinaires de ces oxydations sont le cuivre et le fer, et beaucoup plus actifs que ce dernier les complexes peu dissociés, que le fer forme avec les hydroxyacides. A propos de ces complexes il convient de rappeler la rapide diminution du potentiel rédox trouvée par Joslyn et Lukton (9) par addition au vin d'acide éthylènediamine-tétracétique, complexant énergique.

Si l'on veut empêcher les effets de l'oxydation, il est nécessaire d'éviter dans les produits oxydables, la présence de cuivre, de fer et de leurs complexes, et d'assurer le meilleur isolement vis-à-vis de l'air. Cependant, ces règles ne peuvent pas être généralisées à tous les vins. Les types de vins sont très variés, le consommateur ne demande pas toujours à trouver de la fraîcheur. Le meilleur vin rouge a besoin de vieillissement, et bien que les meilleurs goûts et arômes s'obtiennent dans un état de réduction, l'oxydation limitée, à une température fraîche, pendant un certain temps, constitue une phase importante de son élaboration.

Trois méthodes pour le contrôle rédox œnologique

Dans le vin il y a lieu de faire trois types de mesures rédox de significations différentes et complémentaires. On peut mesurer son potentiel rédox avec des précautions quant à l'absence d'air et l'état de l'électrode de platine. Cette mesure donne des renseignements sur l'état rédox actuel du vin ; elle donne un niveau que l'on peut élever ou abaisser facilement, par l'addition faible de substances appropriées, parmi lesquelles

l'oxygène de l'air. Les altérations du vin par des phénomènes rédox se présentent à des potentiels définis. Le potentiel des vins varie entre certaines limites, dans une zone qui est réductrice vis-à-vis de l'oxygène. Mais la mesure rédox actuelle du vin n'est pas suffisante pour donner une idée de ses possibilités dans le domaine des phénomènes d'oxydo-réduction. Avec une aération, on élève le potentiel rédox, mais un certain temps après l'aération, si l'on maintient le vin à l'abri de l'air, le potentiel s'abaisse.

Une autre mesure d'oxydo-réduction est la capacité de réduction ; on l'obtient quantitativement par l'indice de permanganate ou l'Indicator Time Test, dans les vins blancs, et en plus, qualitativement et quantitativement, par une iodométrie potentiométrique, qui donne, non pas seulement une consommation de solution d'iode, mais aussi un graphique spécifique pour chaque problème. On peut également considérer dans ce groupe les déterminations polarographiques. Grâce à cette mesure de la capacité de réduction, on peut prévoir une technologie future du vin en rapport avec ses contacts avec l'oxygène. Ici interviennent les polyphénols en tant que substances réductrices ; ces indices sont d'autant plus grands que les concentrations de ces substances sont plus élevées. Finalement, on peut connaître le passé d'un vin, son histoire, son temps de conservation, ses traitements plus ou moins intenses, en examinant sa matière colorante, en particulier pour les vins rouges, grâce à l'étude des spectrophotogrammes. Les modifications subies par la matière colorante sont enregistrées dans ces mesures (16).

Références bibliographiques

(1) J. Ribéreau-Gayon et E. Peynaud. *Traité d'Œnologie*. Béranger, Paris, 1961, t. II, p. 199. (2) I. Mareca, C.D. de Bethencourt et A.M. Plasencia. *Ann. Falsif. Expert. Chim.*, 1960, **53**, 136. (3) J. Ribéreau-Gayon. *Contribution à l'étude des oxydations et réductions dans les vins*. Delmas, Bordeaux, 1933. (4) M.A. Joslyn et Lukton A. *Hilgardia*, 1953, **22**, 451. (5) E. Garino-Canina. *Ann. Chim. Appl.*, 1935, **25**, 209. (6) H. Schanderl. *Weinbau. Wiss. Beih.*, 1948, 2 et 7. (7) M.A. Amerine et W.V. Cruess. *The technology of wine making*. AVI, Wesport (USA), 1960, p. 495. (8) A. Lukton et M.A. Joslyn. *Food Research*, 1956, **21**, 456. (9) M.A. Joslyn et A. Lukton. *Food Research*, 1956, **21**, 384. (10) H.W. Berg et M. Akiyoshi. *Am. Journ. Enology*, 1956, **7**, 1.

(11) J.D. Ponting. *Food Enzymes*, AVI, Wesport (USA), 1960, p. 105. (12) P. Ribéreau-Gayon. *Recherches sur les anthocyannes des végétaux*. Thèse Sciences, Paris, 1959. (13) J. Ribéreau-Gayon et J. Gardrat. *Ann. Technol. Agr.*, 1957, **2**, 185. (14) L. Chapon, E. Urion et collaborateurs. *Eur. Brewery Convention*, 1953, 1960 et 1961. (15) E. Urion, L. Chapon et R. Creff. *Boissons de France*, 1960, 2 et 3. (16) I. Mareca. *Ind. Agric. Alim.*, 1962, **79**, 829.

Résumé

Le vin présente, vis-à-vis de l'oxygène, un caractère réducteur, il contient des substances réductrices, il consomme de l'oxygène quand il est mis en contact avec lui.

Diverses altérations, de caractères et d'intensité différents, fréquentes et techniquement importantes, se produisent dans les vins blancs et rouges, avec la participation obligée, mais non exclusive dans le processus global, de phénomènes rédox : casses oxydasiques et métalliques et évolution lente ou rapide de la couleur. De nombreux facteurs interviennent dans les phénomènes rédox, modifiant l'intensité de l'altération et accélérant la réaction de manière différente.

Bien que les scientifiques se soient consacrés à l'étude de l'oxydo-réduction en œnologie, on ne connaît pas encore parfaitement le sujet et on ne le domine pas encore dans la pratique industrielle. On souligne l'action catalytique des métaux lourds dissous et de leurs complexes.

A la longue, un effet d'oxydation est perçu même dans les produits protégés par des substances antioxydantes, elles-mêmes plus facilement oxydables.

Cet effet, correspondant à une aération faible et continue, se distingue de celui produit par un contact intense et de courte durée, qui peut produire rapidement des résultats notables.

Pour déterminer les caractéristiques rédox d'un vin, on peut utiliser trois procédés qui renseignent sur son état présent, son passé et son avenir, et qui sont décrits par l'auteur.

OXIDOREDUCTION PHENOMENA IN RELATION TO THE PROBLEMS OF WINE PRESERVATION AND LIMPIDITY

I. MARECA CORTÉS

Summary

Wine brought into contact with oxygen acts on it as a reducing agent. It contains reducing substances. Wine absorbs oxygene as soon as it finds it.

Various degradations, frequent and technically important, and of unlike characteristics and intensity occur in white and red wines with the indispensable partaking of redox phenomena, which is not however exclusive in the whole process. These alterations are : oxidasic and metallic casses and the slow or rapid change of the colour of wine. Numerous factors intervene in redox phenomena. They modify the intensity of the alteration and accelerate the reaction in a different way.

But despite the constant efforts exerted by competent scientists in the study of oxidoreduction in enology this subject is still insufficiently known and not yet mastered in industrial practice. The catalytic action of the dissolved heavy metals and their compounds is pointed out.

In the long run, an oxidizing effect appears in products protected by antioxidizing substances, which themselves have become more readily oxidable.

This effect, corresponding to a weak and continous aeration, must be distinguished from that brought about through an intense and short contact with oxygen which can produce appreciable results rapidly.

To determine the redox characteristics of a wine, three processes which give information about its present, previous and future condition can be used. These processes are described by the author.

ERSCHEINUNGEN DER OXYDOREDUKTION IN VERBINDUNG MIT DER HALTBARKEIT UND DER KLARHEIT

I. MARECA CORTÉS

Zusammenfassung

Der Wein zeigt gegenüber dem Sauerstoff einen reduzierenden Charakter ; er erhält reduzierende Substanzen ; er verbraucht Sauerstoff wenn er mit ihm in Kontakt kommt.

Veränderungen verschiedener Arten und Intensität, die häufig und technish bedeutend sind, kommen in Weiss und Rotwein mit der nötigen Beteiligung vor, aber nichtausschliesslich in globales Vorgang der Redox-Erscheinungen : Braunwerden und Metallbrüche und engsam oder rasche Ent-

wicklung der Farbe. Zahlreiche Faktoren intervenieren die Redox-Erscheinungen, die die Intensität gewidmet haben, kennt man die Ursache noch nicht vollkommen und beherrscht ihn noch nicht in der gewerblichen Praxis. Man hebt die katalytische Aktion der gelösten Schwermetalle und ihrer Komplex hervor.

Auf die Dauer ist ein Wirkung der Oxydation wahrnehmbar, sogar in denen durch antioxydierenden Substanzen geschützten Erzeugnisse, die selbst viel leichter oxydieren.

Diese Wirkung, die einer schwachen und anhaltenden Lüftung entspricht, unterscheidet sich von derjenigen die durch den intensiven Kontakt und von kurzer Dauer erzeugt wird, durch welcher rasch ansehnlich Resultate erzielt werden können.

Um die Redox-Eigenschaften eines Weines zu bestimmen, kann man drei Verfahren anwenden, welche über seinen gegenwärtigen Zustand, sein Vergangenheit und sein Zukunft unterrichten. Diese sind von Verfasser beschreiben.

FENOMENI D'OSSIDO-RIDUZIONE IN RELAZIONE CON I PROBLEMI DELLA CONSERVAZIONE E DELLA LIMPIDEZZA

I. MARECA CORTÉS

RIASSUNTO

Il vino presenta, nei confronti dell'ossigeno, un carattere riduttore, contiene delle sostanze riduttrici e consuma dell'ossigeno quando viene a trovarsi a contatto con esso.

Diverse alterazioni, di carattere e d'intensità differenti, frequenti e tecnicamente importanti, si producono nei vini bianchi e rossi con la partecipazione necessaria, ma non esclusiva nel processo globale, di fenomeni ossidoriduttori : intorbidamenti ossidasichi e metallichi ed evoluzione lenta o rapida del colore. Numerosi fattori intervegono nei fenomeni ossidoriduttori, modificando l'intensita dell'alterazione ed accelerando la reazione in maniera differente.

Benche molte ricerche siano state consacrate allo studio dell'ossidoriduzione in enologia, il processo non è ancora perfettamente conosciuto e nelle pratica industriale non si puó ancora dire di dominarlo. Si sottolinea l'azione catalizzatrice dei metalli pesanti discolti e dei loro complessi.

A lungo andare, un effetto d'ossidazione è percepibile anche in prodotti protetti da sostanze antiossidanti, più facilmente ossidabili.

Questo effetto, che corrisponde ad una aerazione leggera ma continua, si distingue da quello prodotto da un contatto intenso e di breve durata, che puó produrre rapidamente notevoli risultati.

Per determinare le caratteristiche ossidoriduttrici di un vino, si possono utilizzare tre processi che permettono di conoscere il suo stato attuale, il ruo passato ed il suo avvenire, e che sono descritti dall'autore.

FENÓMENOS DE OXIDOREDUCCIÓN EN RELACIÓN CON LOS PROBLEMAS DE LA CONSERVACIÓN Y DE LIMPIDEZ

I. MARECA CORTÉS

RESUMEN

El vino, frente al oxigeno, tiene caracter reductor, contiene sustancias reductoras, consume oxigeno cuando ambos se ponen en contacto.

Varias alteraciones, de diferentes características e intensidad, frecuentes y de importancia técnica, se producen en vinos blancos y tintos, con participación obligada pero no exclusiva en el proceso total, de fenómenos redox : Quiebras oxidásica y metálicas y evolución del color lenta o rápida. Múltiples factores intervienen en el fenómeno redox, modificando la intensidad de la alteración, acelerando de diferente forma la reacción.

A pesar de la dedicación que los cientificos han dispensado al estudio de la oxidoreducción enológica, todavia falta para conocer perfectamente y para dominar en la práctica industrial esta materia. Se destaca la acción catalítica de metales pesados disueltos y sus complejos.

Un efecto de oxidación en el tiempo se reconoce aún en los productos protegidos por substancias antioxidantes, de más fácil oxidación. Se distingue este efecto, correspondiente a una aireación limitada y continuada, del producido por un contacto intenso aislado que puede dar lugar a resultados notables con rapidez.

Para determinar las caracteristicas redox de un vino pueden emplear se tres procedimientos que informan sobre su presente, su pasado o su futuro.

DISCUSSION

M. Léglise (Beaune) signale la présence de polyphénoloxydase dans les raisins parfaitement sains et la possibilité de casse oxydasique en l'absence de *Botrytis cinerea.*

Réponse : Oui, cette présence est possible, mais mes renseignements sur cette question sont seulement bibliographiques et je n'ai pas d'expérience personnelle à ce sujet.

M. Bolcato (Bari, Italie) : Il existe deux polyphénoloxydases, une propre au raisin, présente en quantité variable dans le raisin sain, et la polyphénoloxydase de *Botrytis cinerea* présente dans le raisin attaqué profondément par la moisissure. On ne sait pas si les deux polyphénoloxydases ont des caractères distincts.

LIMPIDITÉ ET PROBLÈMES DE CLARIFICATION

TRAVAUX SUR LES COLLOÏDES DES VINS EN RELATION AVEC LES PROBLÈMES DE LA LIMPIDITÉ

L. USSEGLIO-TOMASSET

Station Œnologique expérimentale, Asti (Italie)

Les phénomènes de troubles des vins et, d'une manière moins absolue, aussi les précipitations cristallines de bitartrate de potassium et de tartrate neutre de calcium, sont tous des phénomènes colloïdaux, soit qu'ils concernent l'évolution de colloïdes préexistants, soit qu'ils se rapportent à des substances qui prennent l'état colloïdal dans des conditions physico-chimiques déterminées.

Ce n'est pas par dépassement des limites imposées par le produit de solubilité et par la loi d'action des masses qu'obligatoirement se produisent les troubles. Une substance, non plus en solution vraie, peut être colloïdalement dispersée en particules de dimensions beaucoup plus grandes que les particules moléculaires, mais suffisamment petites pour que l'œil ne soit pas impressionné, et que le liquide reste parfaitement limpide.

La dernière phase du phénomène qui porte sur la constatation macroscopique du trouble est une phase à caractère colloïdal donc influencée par la présence des autres colloïdes du milieu ; ceux-ci peuvent, soit favoriser, soit ralentir le phénomène : une opposion de charge de particules, des différences d'affinité pour l'eau (caractère lyophile ou polaire), peuvent constituer des causes de floculation, alors que des particules entourées d'une légère couche, parfois d'épaisseur moléculaire, d'un autre colloïde, peuvent être « protégées » par ce dernier, avec comme résultat l'empêchement de l'évolution vers des agrégats plus importants, qui sont une cause de trouble.

De ces quelques points, il résulte que pour une compréhension complète d'un phénomène de trouble, il est nécessaire de connaître non seulement les facteurs chimiques et physico-chimiques qui déterminent la formation d'une substance donnée peu soluble, mais encore les caractéristiques colloïdales de la substance formée à partir de ce premier groupe de phénomènes ; au fond, c'est la complète connaissance qualitative et quantitative de tous les colloïdes présents dans le vin qui est nécessaire.

Les colloïdes du vin

Quels sont les colloïdes présents dans le vin ? Ce sont ceux qui proviennent naturellement du raisin, ceux qui sont produits pendant la vinification, ceux qui restent à la suite d'additions au cours des traitements subis par le vin, enfin les colloïdes additionnés sous leur forme propre au vin en vue de le stabiliser.

Le moût est la source principale des colloïdes que l'on retrouvera ensuite dans le vin. Bien que depuis plus d'un demi siècle les œnologues se soient consacrés à l'étude des substances colloïdales du vin, c'est seulement à une époque relativement récente qu'on est arrivé à une connaissance plus détaillée, toutefois encore incomplète.

Les « gommes » et les « pectines » ont été considérées par Muntz et Lainé (1, 2), Semichon et Flanzy (3, 4), comme responsables du moelleux des vins, mais aujourd'hui cette affirmation ne peut plus être soutenue. En outre, au dosage global des « gommes et pectines » par précipitation à l'alcool, Peynaud [5] a substitué la détermination différenciée des pectines, des « gommes » et des protéines précipitées. Cette méthode a montré combien la teneur des moûts et des vins en pectines proprement dites, considérées comme des acides polygalacturoniques partiellement méthylés, pouvait être inférieure à ce que l'on pensait auparavant ; la méthode a aussi permis de suivre l'évolution des pectines pendant la vinification. Dans une série de travaux sur les colloïdes du moût et du vin (6 à 12), nous avons conduit un examen électrophorétique qui nous a permis de séparer d'une façon purement physique les divers composants colloïdaux et de les évaluer quantitativement. Les pectines se distinguent des autres colloïdes par une grande mobilité électrophorétique négative et leur dosage par la voie physique, fait confirmé par de récentes déterminations non encore publiées, concorde, en ce qui concerne les moûts, avec le dosage alcalimétrique selon Peynaud. Dans le cas des vins, la méthode électrophorétique nous a fourni des valeurs plus élevées que celles de la méthode alcalimétrique. Nous avons encore en cours, en collaboration avec Tarantola, une série d'essais pour confirmer les différences entre l'évaluation chimique et l'évaluation électrophorétique des pectines, en nous appuyant également, pour leur détermination chimique sur une méthode spectrophotométrique indiquée par Zitko (13) et que nous avons modifiée. La méthode de dosage électrophorétique n'est pas en relation étroite avec la constitution chimique du colloïde examiné ; donc des différences confirmées entre les dosages chimique et électrophorétique pourront éclairer les transformations éventuelles de structure subies par les pectines pendant la vinification.

En ce qui concerne la présence des protéines dans les moûts et les vins, et leur importance sur la limpidité, en particulier pour les vins blancs, on peut rappeler les observations de Laborde (14), Marcille (15) et celles de Ribéreau-Gayon (16), qui a souligné l'efficacité du traitement avec les colloïdes minéraux, kaolin et bentonite. Le traitement à la bentonite est aujourd'hui le moyen le plus pratique et le plus efficace pour prévenir les troubles de nature protéique. Les travaux plus récents sur les protéines du vin effectués par Kielhöfer (17) et par Koch (18 à 23) ont beaucoup élargi notre champ de connaissances sur les dépôts de nature protéique. Koch a réalisé par électrophorèse sur papier la séparation des protéines en un plus grand nombre de fractions ; des deux fractions que l'on observe généralement, une seule, la plus abondante, est coagulable et précipitable par chauffage, alors que la bentonite agit sur les deux fractions. Pour notre part, nous avons reconnu la présence de protéines parmi les composants de basse mobilité électrophorétique, au moyen de l'électrophorèse en phase libre suivie par la réaction à la ninhydrine, alors que les substances protéiques sont absentes des composants à grande mobilité négative.

Evolution des substances colloïdales du moût au vin

Nous avons particulièrement suivi, toujours en nous appuyant sur l'électrophorèse en phase libre, l'évolution de la constitution colloïdale depuis le moût jusqu'au vin d'un an, pour trois vins rouges fermentés avec les parties solides de la grappe, moins les rafles, et pour un de vinification en blanc (8). Les résultats expérimentaux de ce travail nous ont permis de distinguer deux cas :

1) La fermentation en blanc, après laquelle on observe une diminution des substances colloïdales et en particulier une intense démolition des pectines, qui présentent déjà de très petites valeurs à la fin de la fermentation tumultueuse et qui disparaissent complètement en un an, alors que les autres colloïdes à basse mobilité subissent des variations qualitatives et quantitatives de petite importance : après un an de conservation, on a un contenu en colloïdes totaux d'environ 0,300 g par litre.

2) La fermentation en présence des parties solides de la grappe, moins les rafles, dans laquelle passent en solution aussi bien des colloïdes à basse mobilité que des pectines.

A la fin de la fermentation tumultueuse, on observe une augmentation des colloïdes totaux ; les pectines diminuent légèrement ou quelquefois aussi peuvent augmenter, malgré la dégradation exercée par les enzymes présentes. Pendant la conservation, la diminution des pectines est proportionnellement plus importante que celle des colloïdes à basse mobilité, mais les pectines restent toujours présentes : après un an de conservation, les vins présentent une teneur en colloïdes totaux d'environ 0,600 g par litre et une quantité de pectines comprise entre 0,080 et 0,120 g par litre.

Dans le travail cité, nous avons fait l'erreur d'attribuer aux levures la démolition des pectines que l'on peut constater dans la période de vinification ; les observations de Malan (24) sur le pouvoir pectolytique des levures nous ont poussé à réaliser une expérience (en cours de publication dans les « *Annali della Sperimentazione Agraria* »), dans laquelle l'analyse électrophorétique a montré que :

1) La dégradation des pectines a lieu aussi en l'absence de fermentation.

2) Dans des milieux synthétiques, les pectines ne subissent aucune variation quantitative et qualitative provoquée par une souche de levure elliptique.

En outre, dans un travail en collaboration avec Tarantola sur les enzymes pectolytiques naturelles du moût (en cours de publication dans « *Vitis* »), nous avons suivi le mécanisme de dégradation des pectines et montré, en plus de la présence d'une pectine méthyl-estérase (PME) non spécifique (enzyme déjà trouvée par d'autres auteurs), également celle d'une polygalacturonase (PG) spécifique, qui dégrade seulement les pectines du raisin et non pas celles d'une autre provenance. Une méthode d'évaluation de la PME, basée sur le processus cinétique particulier de cette hydrolyse enzymatique, a permis à Tarantola et nous-même de constater comment cette enzyme était rapidement et presqu'en totalité inactivée pendant la vinification. Il est très probable que la même inactivation se vérifie aussi sur la PG. Donc les phénomènes de dégradation supportés par les pectines sont l'œuvre des enzymes naturelles du raisin, au cours des premières heures qui suivent le foulage et le pressurage. La rapide inactivation des enzymes explique la présence et la persistance des pectines dans les vins provenant de vinification en rouge.

Les colloïdes de la baie de raisin

Dans un autre travail en collaboration avec Tarantola et non encore terminé, travail qui consiste à déterminer la répartition de la pectine méthyl-estérase dans la

baie de raisin (pulpe, pellicules et pépins), nous avons procédé à la séparation mécanique des diverses parties du grain. A partir de la pulpe homogénéisée, nous avons précipité les colloïdes avec de l'alcool ; les pellicules et les pépins ont été désagrégés à plusieurs reprises dans un « mixer » en présence d'acétone, de façon à obtenir, après un maintien en thermostat à 30 °C pendant 24 heures, une poudre fine et sèche. De la quantité de pellicules et de pépins pulvérisés correspondant à 100 ml de moût, nous avons extrait en plusieurs fois avec de l'eau chaude les substances solubles et, de la solution ainsi obtenue, nous avons précipité les colloïdes avec de l'alcool, d'abord en milieu acide puis, après redissolution en milieu neutre. Ainsi on a obtenu une série de colloïdes provenant respectivement de la pulpe, des pellicules et des pépins. Les colloïdes des diverses parties du grain ont été isolées des raisins des cépages Dolcetto, Cortese et Barbera provenant du vignoble expérimental de notre Station. On a prélevé une grappe par pied, sur dix pieds de chaque cépage, en recherchant des échantillons de grappes homogènes.

Dans le cas du Dolcetto et du Cortese, deux prélèvements ont été faits à 10 jours d'intervalle l'un de l'autre, et sur les mêmes pieds ; le deuxième prélèvement a été effectué à la maturité des raisins. Pour le Barbera, nous avons exécuté, sur les mêmes pieds, trois prélèvements à 10 jours d'intervalle l'un de l'autre, et le dernier au moment de la maturité. Le but de ces prélèvements successifs est d'observer une éventuelle variation dans le temps de la constitution colloïdale des diverses parties du grain de raisin.

Les raisins provenant des parcelles sur lesquelles on a prélevé les échantillons des trois cépages indiqués, ont été vinifiés en présence des parties solides de la grappe, sauf les rafles, en ce qui concerne le Dolcetto et le Barbera alors que le Cortese a été vinifié en blanc. A partir des vins obtenus, on a précipité les colloïdes avec l'alcool. On a déterminé le poids par capsule tarée de tous les précipités colloïdaux recueillis ; nous sommes ensuite passé à l'analyse des colloïdes obtenus.

La méthode d'analyse employée se réfère à une méthode indiquée par ZITKO (13). Si l'on dissout dans de l'acide sulfurique à 90 % des quantités d'arabinose, de galactose et d'acide galacturonique séparément et si l'on porte la solution pendant 5 minutes au bain-marie à l'ébullition, on obtient des spectres d'absorption caractéristiques dans l'ultraviolet. En faisant trois mesures à trois longueurs d'onde différentes (213, 275 et 320 mμ), il est possible de calculer les concentrations des trois substances quand elles se trouvent mélangées ensemble. La solution satisfaisante d'un problème d'analyse indirecte de ce genre n'est pas simple ; on risque d'obtenir des valeurs illusoires si l'on n'a pas une claire conscience des erreurs maximales possibles. C'est pour cette raison que nous avons rejeté la solution ZITKO et établi les équations qui permettent de calculer les concentrations des différents composants à partir du travail statistique des données de vingt-cinq mélanges expérimentaux pris au hasard parmi trente-cinq mélanges. Les équations qui donnent respectivement les valeurs de l'arabinose, du galactose et de l'acide galacturonique ont été obtenues par la résolution de calculs se rapportant à une régression multiple. Les équations ont été étudiées statistiquement, en vue d'établir l'erreur maximale : de cette façon, on est certain de la valeur générale de la méthode, dans les limites de l'erreur maximale obtenue. Les arabanes, les galactanes et les pectines ont un comportement exactement analogue à l'arabinose, au galactose et à l'acide galacturonique. Le glucose présente le même spectre d'absorption dans l'ultra-violet que le galactose. La méthode, dont on a indiqué les principes, se prête donc à une évaluation des divers types de colloïdes présents en même temps. La prise d'essai est d'environ 100 μg de colloïdes totaux et l'erreur moyenne absolue pour chaque substance est de l'ordre de 2,5 μg alors que l'erreur maximale dans 95 % des cas atteint 6 μg.

Nous indiquons dans les tableaux suivants les données obtenues en exprimant les concentrations des divers colloïdes respectivement en arabinose, galactose et acide galacturonique.

TABLEAU 1

Cépages	Date des prélèvements		Pourcentage en colloïdes totaux extractibles et précipitables des diverses parties du grain de raisin		
			Pulpe	Pellicules	Pépins
Dolcetto	27 septembre	1962	35,85	39,45	24,70
Cortese	20 septembre	1962	35,21	29,14	35,65
Cortese	1er octobre	1962	40,47	27,70	31,83
Barbera	13 septembre	1962	66,32	8,90	24,78
Barbera	24 septembre	1962	39,73	28,98	31,29
Barbera	4 octobre	1962	42,70	35,42	21,88

TABLEAU 2

Cépages	Date des prélèvements 1962	Pourcentage en colloïdes totaux dans les diverses parties du grain de raisin											
		Pulpe				Pellicules				Pépins			
		Arabanes	Galactanes	Pectines	Somme des 3 colloïdes	Arabanes	Galactanes	Pectines	Somme des 3 colloïdes	Arabanes	Galactanes	Pectines	Somme des 3 colloïdes
Dolcetto	17 septembre					14,9	21,7	31,5	68,1	6,1	34,7	—	40,8
Dolcetto	27 septembre	6,0	14,2	46,5	66,7	11,8	9,4	46,3	67,5	3,6	22,6	11,3	37,5
Cortese	20 septembre	3,2	16,1	58,7	78,0	6,8	14,7	57,7	79,2	—	20,9	25,6	46,5
Cortese	1er octobre	8,5	16,1	47,4	72,0	12,3	14,5	51,6	78,4	—	19,3	25,9	45,2
Barbera	13 septembre	3,9	11,7	54,9	70,5	18,0	49,9	25,5	93,4	—	46,9	20,1	67,0
Barbera	24 septembre	2,6	16,3	55,6	74,5	7,7	12,9	65,7	86,3	—	28,0	24,0	52,0
Barbera	4 octobre	3,2	14,9	43,6	61,7	6,7	17,4	56,4	80,5	1,5	27,9	25,8	55,2

TABLEAU 3

Vins des cépages	Pourcentage des colloïdes totaux			
	Arabanes	Galactanes	Pectines	Somme des 3 colloïdes
Dolcetto	22,1	28,1	43,5	93,7
Cortese	35,6	47,4	5,8	88,8
Barbera	35,4	29,6	23,6	88,6

TABLEAU 4

Colloïdes totaux du vin au décuvage exprimés en % des colloïdes extractibles du grain de raisin mûr

Dolcetto	Cortese	Barbera
27,6	13,9	30,4

De l'examen approfondi des résultats indiqués ci-dessus, on peut tirer les observations suivantes :

1) 40 % des colloïdes solubles extractibles du grain de raisin sont fournis par la pulpe, alors que les pellicules et les pépins n'en fournissent que 30 à 35 % environ. On doit souligner que les colloïdes de la pulpe se trouvent en solution dans le moût alors que ceux des pellicules et des pépins ont été extraits en plusieurs fois des parties solides.

2) Les colloïdes de la pulpe sont constitués pour 70 % environ d'arabanes, de galactanes (éventuellement de polymères du glucose) et de pectines. Les colloïdes des pellicules sont constitués pour 80 % environ d'arabanes, de galactanes et de pectines.

3) Les pectines représentent en outre 50 % des colloïdes totaux de la pulpe et des pellicules et 20 à 25 % environ des colloïdes totaux des pépins.

4) Les arabanes sont peu représentées dans la pulpe (5 %), dans les pellicules (10 %) et dans les pépins (à peine présentes).

5) Les galactanes (éventuellement en union avec les hémicelluloses) représentent 15 % environ des colloïdes de la pulpe, 15 à 20 % environ des colloïdes des pellicules et 20 à 25 % des colloïdes des pépins.

6) Dans les derniers dix jours de la maturation du raisin, la constitution colloïdale des diverses parties du grain ne change pas ; à vingt jours de la maturité, on note pour le Barbera une proportion de galactanes dans les pellicules et les pépins beaucoup plus grande que dans la période suivante, toutefois on ne peut tirer de conclusions générales quand il s'agit d'un résultat isolé.

7) Dans les vins élaborés soit avec les parties solides, soit en blanc sans macération, arabanes, galactanes et pectines représentent environ 90 % des colloïdes totaux.

8) Les colloïdes totaux des vins provenant de vinification en rouge représentent 30 % environ de ceux qui sont extractibles du grain ; pour les vins élaborés en blanc, cette valeur, du fait de la disparition des pectines, tombe à 15 % environ.

9) Les pectines représentent de 20 à 40 % des colloïdes totaux dans les vins provenant de vinifications en rouge, et sont à peine représentées après vinification en blanc ; c'est une nouvelle confirmation de ce que nous avons précédemment indiqué.

10) La constitution colloïdale des vins diffère de celle de la pulpe, des pellicules et des pépins ; arabanes et galactanes y sont toutes deux représentées avec des teneurs de 30 à 35 %. En plus de la diminution en pourcentage des pectines, on a une solubilisation de ces colloïdes à partir des parties solides. On observe en outre un apport des colloïdes cédés par les levures au substrat fermentescible, apport qui peut dépasser 15 % des colloïdes totaux et qui est constitué par des substances à basse mobilité électrophorétique, donc de nature glucidique (11).

Nous ne sommes pas encore en possession des résultats concernant la teneur en azote des précipités colloïdaux, résultats qui compléteront la liste des colloïdes du grain de raisin et des vins grâce à l'évaluation des protéines solubles et précipitables par l'alcool.

Dans le complexe colloïdal des vins entre la substance colorante des vins rouges ; une partie de cette substance se trouve en effet dispersée et susceptible de précipiter par refroidissement. Le comportement colloïdal d'une partie des substances colorantes des vins rouges, en équilibre avec la partie restant en solution moléculaire, a été mis en évidence par RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD (25).

COLLOÏDES AJOUTÉS AU VIN

RIBÉREAU-GAYON (26) a étudié les propriétés stabilisantes d'un colloïde lyophile qui, ajouté au vin en petite quantité, peut sinon les résoudre d'une façon absolue, du moins contribuer dans beaucoup de cas à la solution pratiquement suffisante de nombreux problèmes de stabilisation : il s'agit de la gomme arabique.

Les propriétés de ce colloïde suivant son origine et le mode d'emploi ont été largement illustrées par cet auteur.

Nous ajouterons que nous avons soumis un échantillon de gomme arabique pour usage pharmaceutique, d'origine non précisée, il y a déjà quelques années, à l'examen électrophorétique. Nous avons obtenu la séparation en deux composants, l'un de grande mobilité négative qui représentait plus de 70 % de la totalité, et l'autre non mobile. Nous avons de plus opéré avec deux tampons monomoléculaires respectivement de pH 6,2 et 3,0. Le principal composant de l'échantillon examiné de gomme arabique présente une mobilité d'environ $-7{,}0 \times 10^{-5}$ à pH 6,2 et une mobilité d'environ $-5{,}6 \times 10^{-5}$ à pH 3. Le principal composant de la gomme arabique possède donc une charge négative élevée et cette charge, à la différence de celle des pectines (10), est à peine influencée par une diminution de pH et elle reste élevée pour les pH caractéristiques du vin : voici une des causes qui confèrent le caractère de colloïde protecteur à la gomme arabique.

Les connaissances que nous avons aujourd'hui sur les colloïdes des vins, sur leurs propriétés et sur l'influence qu'ils exercent sur la limpidité, sont encore très incomplètes.

Il existe des phénomènes, confirmés expérimentalement, et qui très probablement sont liés à la présence de substances à caractère colloïdal. La nature de ces phénomènes demeure inconnue. En effet, le bitartrate de potassium et le tartrate neutre de calcium par exemple, dans les vins à la réfrigération, ne précipitent pas de façon telle qu'on arrive à l'équilibre compatible avec la composition chimique et la structure physico-chimique du vin réfrigéré (12). D'ailleurs il est heureux que l'on n'arrive pas à l'équilibre physico-chimique ; car pour beaucoup de vins, la perte du pouvoir tampon qui en résulterait les rendrait tout à fait impropres à la consommation à cause d'une excessive acidité réelle. Si des polymères de caractère colloïdal et acide (polyphosphates, acide métatartrique) inhibent les précipitations tartriques, il vient tout de suite à l'esprit que des substances analogues existent naturellement dans les vins.

CONCLUSIONS

Arrivés à la fin de ce rapport, on peut constater que nous avons fait la présentation des colloïdes du vin, donné des précisions limitées sur les caractéristiques qualitatives, ainsi que les teneurs présentes des diverses espèces de colloïdes. Mais ce

que nous ne savons pas faire, c'est établir une relation précise entre chaque colloïde et la limpidité du vin. Si l'on excepte les protéines et la matière colorante dont de nombreux auteurs cités se sont occupés complètement, surtout en ce qui concerne la limpidité et dont les spécialistes traiteront amplement au sein de ce Symposium, nous ne sommes pas en mesure de dire beaucoup de choses sur les relations qui existent entre chaque colloïde et la limpidité. Le comportement des arabanes, des galactanes, des hémicelluloses, des pectines par rapport à la limpidité se présente donc encore comme une série de problèmes à résoudre.

Références bibliographiques

(1) A. Muntz. *C.R. Acad. Sci.*, 1905, 140, 346. *Rev. Vitic.*, 1905, **22**, 187. (2) A. Muntz et E. Lainé. *Ann. Brass. Dist.*, 1906, **9**, 157 et 173. (3) L. Semichon. *Chim. Ind.*, 1927, **17**, 25. (4) L. Semichon et M. Flanzy. *C.R. Acad. Sci.*, 1926, 183, 394. *Ann. Falsif. Fraudes*, 1927, **20**, 395. (5) E. Peynaud. *Ind. Agric. alim.*, 1951, **68**, 609. *Ann. Falsif. Fraudes*, 1952, **45**, 11. (6) L. Usseglio-Tomasset. *Annali. Sper. Agrar.*, 1958, **12**, 855. (7) L. Usseglio-Tomasset. *Ibid.*, 1958, **12**, 1689. (8) L. Usseglio-Tomasset. *Ibid.*, 1959, **13**, 385. (9) L. Usseglio-Tomasset. *Chimica Industria*, 1959, **41**, 1089. (10) L. Usseglio-Tomasset. *Riv. Vitic. Enol.*, 1959, 40, 9, 316 et 40, 10, 349.

(11) L. Usseglio-Tomasset. *Riv. Vitic. Enol.*, 1961, **2**, 63. (12) L. Usseglio-Tomasset. *Vini d'Italia*, 1961, **14**, 323. (13) V. Zitko et J. Rosik, *Die Nahrung*, 1961, **5**, 497. (14) J. Laborde. *Rev. Vitic.*, 1904, **21**, 8. (15) R. Marcille. *Ann. Falsif. Fraudes*, 1931, **24**, 167. (16) J. Ribereau-Gayon. *Ann. Falsif. Fraudes*, 1932, **25**, 518 et 602. *Rev. Vitic.*, 1935, **82**, 367. (17) E. Kielhöfer. *Bull. Intern. Vin*, 1942, **157**, 7. *Der Weinbau*, 1948, **2**, 233 et 1949, **3**, 10 et 23. *Zeits. Lebensm. Unters. Forsch*, 1951, **92**, 1. *Weinberg u. Keller*, 1954, **1**, 292. (18) J. Koch et E. Geiss. *Zeits. Lebensm. Unters. Forsch*, 1954, **99**, 188. (19) J. Koch, G. Bretthauer et H. Schwahn, *Naturwissenschaften*, 1956, **43**, 421. (20) J. Koch. *Weinberg u. Keller*, 1957, **4**, 521. *Die Fruchtsaft-Industrie*, 1958, **3**, 207.

(21) J. Koch et G. Bretthauer. *Zeits. Lebensm. Unters. Forsch.*, 1957, **106**, 272 et 361.(22) J. Koch et H. Schwahn. *Ibid.*, 1958, **107**, 20, 413 et 521. (23) J. Koch, H. Freter et E. Sajak. *Ibid.*, 1959, **109**, 395. (24) C.E. Malan. *Acc. Ital. Vite Vino*, 1960, **12**, 201. (25) J. Ribéreau-Gayon et E. Peynaud. *C.R. Acad. Agric.*, 1935, **21**, 720. (26) J. Ribéreau-Gayon. *C.R. Acad. Agric.*, 1933, **196**, 1689. *Bull. Soc. Chim.*, 1933, **53**, 1162. *Ann. Brass. Dist.*, 1934, **32**, 40.

Résumé

Nous avons examiné la nature des colloïdes présents dans les vins, leur origine et leurs caractéristiques.

Nous avons donné en particulier un tableau qualitatif et quantitatif des colloïdes provenant des diverses parties de la baie du raisin : pulpe, pellicules et pépins.

La majeure partie des colloïdes du vin provient du raisin, une petite quantité d'environ 10 % est donnée par les levures pendant la fermentation. Les colloïdes de la baie sont essentiellement constitués par des pentosanes, des galactanes, des hémicelluloses, des pectines et des protéines. La répartition de ces colloïdes est différente dans les diverses parties de la baie : la pulpe et la pellicule sont particulièrement riches en pectines, au contraire les pentosanes et les galactanes y sont peu représentées ; les pépins sont plus riches en galactanes.

Pendant la fermentation, on observe une rapide destruction enzymatique des pectines, mais également une inactivation rapide des enzymes pectolytiques : pour cette raison dans les vins obtenus par vinification en rouge les pectines constituent encore un bon pourcentage des colloïdes totaux.

La constitution colloïdale des vins diffère quantitativement de celle des raisins ; en effet les arabanes et les galactanes sont proportionnellement plus abondantes dans le vin.

Avec le vieillissement, on constate une lente diminution des colloïdes totaux du vin, avec une chute plus marquée de la teneur en pectines.

RESEARCH WORK ON THE COLLOIDS IN WINE IN RELATION TO THE PROBLEMS OF ITS LIMPIDITY

L. USSEGLIO-TOMASSET

Summary

We have examined the nature of the colloids which are present in wine, together wit their origin and their characteristics.

We have particularly given a qualitative and quantitative table of the colloids occuring in the various parts of grape berry : pulp, skin and seeds.

The greater part of the colloids in wine comes from the grapes ; a small quantity (about 10 %) results from the yeasts during fermentation. The colloids of the berry essentially comprise pentosans, galactans, hemicelluloses, pectins and proteins. The arrangement of these different colloids differs in the various parts of the berry, the pulp and the skin are particularly rich in pectins, while pentosans and galactans are scanty, the seeds are richer in galactans.

During fermentation, one notices a rapid enzymatic destruction of the pectins, but also a rapid inactivation of pectolytic enzymes : that is why in wines obtained by red wine making, the pectins still form a good percentage of the total colloids.

The colloidal constitution of wines differs quantitatively from that of the grapes ; arabans and galactans are indeed proportionally more abundant in wine.

With the aging of wine, one notes a slow diminution of the total colloids in wine, with a more notable fall in the pectin content.

ÜBER DIE WEINKOLLOIDE IN VERBINDUNG MIT DEN PROBLEM DER KLARHEIT

L. USSEGLIO-TOMASSET

Zusammenfassung

Wir haben die Natur, die Herkunft und die Merkmale der in Wein anwesenden Kolloide untersucht.

Wir haben besonders ein qualitatives und quantitatives Bild derjenigen Kolloide gegeben, die aus den verschiedenen Teilen der Weinbeere stammen : Beerenfleisch, Beerenhaut und Kerne.

Der grösste Teil der Kolloide des Weines stammt aus der Traube ; ein geringer Anteil von 10 % wird von den Hefen während der Gärung geliefert. Die Kolloide der Beere bestehen hauptsächlich aus den Pentosanen, den Galaktanen, den Hemizellulosen, den Pektinen und den Proteinen. Die Verteilung dieser Kolloide ist verschieden in den verschiedenen Teilen der Beere : das Beerenfleisch

und die Beerenhaut sind besonders reich an Pektin, dagegen sind die Pentosane und Galaktane nur wenig darin vertreten ; die Kerne sind reicher an Galaktanen.

Während der Gärung beobachtet man sowohl eine rasche enzymatische Zerstörung der Pektine als auch eine rasche Inaktivierung der pektolytischen Enzyme : aus diesem Grunde stellen die Pektine noch einen hohen Prozentsatz aller Kolloide dar und zwar besonders bei jenen Weinen, die durch eine Maischegärung erhalten wurden.

Die kolloidale Zusammensetzung der Weine differiert quantitativ von der der Trauben ; in der Tat sind die Arabane und die Galaktane verhältnismässig reichlicher im Wein anzutreffen.

Mit dem Altern des Weines stellt man eine langsame Abnahme aller Kolloide im Wein fest, gleichzeitig auch ein deutlicheres Absinken des Pektingehaltes.

RICERCHE SUI COLLOIDI DEI VINI IN RELAZIONE CON I PROBLEMI DELLA LIMPIDEZZA

L. USSEGLIO-TOMASSET

RASSIUNTO

Abbiamo essaminato la natura dei colloidi presenti nei vini, la loro origine e le loro caratteristiche.

In particolare abbiamo dato un quadro qualitativo e quantitativo dei colloidi provenienti dalle diversi parti dell'acino : polpa, bucce e vinaccioli.

La maggior parte dei colloidi del vino provengono dall'uva ; una piccola quantità intorno al 10 % viene ceduta dai leviti durante la fermentazione. I colloidi dell'acino sono essenzialmente constituiti da pentosani, gallatani, emicellulose, pectine e proteine. La distribuzione di questi colloidi è diversa nelle diverse parti dell'acino : polpa e bucce sono particolarmente ricche in pectine, mentre i pentosani e i galattani sono poco rappresentati ; i vinaccioli sono piu ricchi in galattani.

Durante la fermentazione si ha una rapida demolizione enzimatica delle pectine, ma anche un'inattivazione rapida degli enzimi pectolitici : per questo nei vini ottenuti da vinificazione in rosso le pectine costituiscono ancora una buona percentuale dei colloidi totali.

Nei vini il quadro colloidale differisce quantitativamente rispetto a quello presentato dall'acino, infatti arabani e galattani sono percentualmente piu rappresentati nel vino.

Con l'invecchiamento si ha una lenta diminuzione dei colloidi totali del vino, con una caduta piu marcata del tenore in pectine.

TRABAJOS SOBRE LOS COLOIDES DE LOS VINOS, EN RELACIÓN CON LOS PROBLEMAS DE LA LIMPIDEZ

L. USSEGLIO-TOMASSET

RESUMEN

Hemos examinado la naturaleza de los coloides presentes en los vinos, su origen y sus caracteristicas.

Hemos dado en particular una tabla cualitativa y cuantitativa de los coloides que provienen de los differentes partes del grano de uva : pulpa, hollejo y semillas.

La mayor parte de los coloides del vino proviene de la uva ; una pequeña cantidad, alrededor de 10 %, la dan las levaduras durante la fermentación. Los coloides del grano están constituidos esencialmente por pentosanas, galactanas, hemicelulosas, pectinas et proteinas.

La repartición de estos coloides es diferente en las diversas partes del grano : la pulpa y el hollejo son particularmente ricos en pectinas, por el contrario, las pentosanas y las galactanas son escasos ahi ; las semillas son mas ricas en galactanas.

Durante la fermentación, se observa una rápida destrucción enzimática de las pectinas, pero igualmente una inactivación rápida de las enzimas pectoliticas : por esta razón, en los vinos obtenidos por vinificación en tinto las pectinas constituyen todavia un buen porcentaje de los coloides totales.

La constitución coloidal de los vinos difiere cuantitativamente de la de las uvas ; en efecto, las arabanas y las galactanas son proporcionalmente mas abundantes en el vino.

Con el envejecimiento se comprueba una lenta disminución de los coloides totales del vino, con una baja más notoria en el contenido de pectinas.

LA FILTRATION DES VINS. FILTRATION AVEC ALLUVIONNAGE CONTINU ET FILTRATION SUR PLAQUES STÉRILISANTES

W. GEISS

Directeur du Laboratoire d'Œnologie et de Biochimie, Kreuznach (Allemagne)

L'importance de la filtration pour la clarification des vins

L'œil se réjouit de la brillance d'un vin, qui, complètement débarrassé d'éléments troubles, étincelle dans les verres. En outre ses précieuses qualités ressortent davantage, si le vin ne renferme en suspension aucune matière solide, qu'elle soit grossièrement ou finement divisée. C'est la raison pour laquelle en œnologie la filtration revêt une importance primordiale. Il s'agit là d'un domaine d'activité dont les principes doivent être recherchés moins du point de vue scientifique que du côté pratique, c'est-à-dire par l'observation et l'expérience.

Au cours de la vinification, la clarification peut survenir par le dépouillement spontané des matières solides existant dans le moût avant l'entreposage et de celles se formant par la suite, y compris les microorganismes, et cela en raison de leur poids spécifique élevé.

La clarification naturelle est fréquemment facilitée par un collage du vin, en employant des substances véritablement ou colloïdalement solubles, qui, après avoir été additionnées et mélangées au contenu du fût, englobent avec elles par floculation des particules troubles encore plus petites et les entraînent au fond.

L'efficacité de la clarification obtenue par un collage peut se constater à l'aide d'un néphélomètre et en outre par des essais de filtration. Plus le vin aura été clarifié par le traitement, moins la plaque filtrante sera chargée par des matières troubles.

Au cours de la filtration le liquide à filtrer s'écoule à travers le moyen filtrant, les substances troubles étant retenues par la matière filtrante alluvionnée ou par la plaque. Par opposition avec les autres procédés, précédemment signalés, la sécurité absolue du processus de clarification pose comme condition d'une part d'opérer selon les règles et d'autre part d'employer dans un filtre convenable des plaques filtrantes ayant un pouvoir de rétention suffisant.

Adsorption et tamisage

L'efficacité des plaques repose *sur l'adsorption*, c'est-à-dire sur l'interception des matières troubles pendant le passage du liquide grâce aux forces d'attraction superficielle de la matière filtrante, ainsi que *sur l'effet de tamisage*.

L'adsorption dépend de la nature de la matière filtrante employée, principalement de sa « surface interne » totale, ainsi que bien entendu de la nature du trouble à éliminer par adsorption.

Pour l'effet de tamisage le diamètre des pores des différentes plaques ou de la matière filtrante alluvionnée, tout comme la grandeur des particules troubles à retenir, jouent un rôle prépondérant.

Si les troubles sont plus petits que les pores des plaques ou les canaux de la matière filtrante, on n'a plus aucune certitude d'éliminer du liquide les substances en question, la puissance d'adsorption s'épuisant plus ou moins rapidement.

Substances dissoutes, colloïdes et suspensions

Dans le vin sont contenus : des éléments véritablement dissous, des colloïdes de diverses dimensions, des matières solides se trouvant en suspension, et d'une grandeur telle qu'elles ne peuvent plus être considérées comme colloïdes.

Sous le nom de solutions véritables, il s'agit de substances existant en répartition monomoléculaire. Impossible de les retenir par filtration, car par rapport au diamètre des pores de la matière filtrante elles sont beaucoup trop petites. En outre les quantités retenues par adsorption sont vraiment trop minimes pour être considérées comme une « perte » à proprement parler.

Les colloïdes constituent des groupes de molécules dont les dimensions vont d'un dix millième à un millionième de millimètre environ. Ce degré de division est donc particulièrement intéressant. On peut en effet démontrer, non seulement théoriquement mais également dans la pratique, qu'avec des plaques à pores très serrés on est en mesure de retenir au cours de la filtration au moins un certain pourcentage des plus gros colloïdes. De précieux enseignements résultent des essais de filtration des vins ayant une teneur importante en colloïdes et a priori difficiles à filtrer. Après un traitement à la chaleur ou au froid ou en employant des substances de collage convenables, il a été dans de nombreux cas possible d'améliorer les conditions de travail, les mesures en question ayant eu pour résultat d'agrandir les dimensions des colloïdes.

Les colloïdes se présentent parfois sous forme de colloïdes protecteurs. Cette désignation repose sur le fait que par suite de leur degré de division ils sont particulièrement résistants et que de plus ils « enrobent » d'autres colloïdes instables, empêchant ainsi l'agrandissement de leurs particules et par conséquent leur dépouillement.

Un exemple bien connu dans les chais concernant ce genre de colloïdes protecteurs est fourni par les pectines existant dans les jus de raisins, de pommes et de baies. Elles ont incité les entreprises de jus de fruits à utiliser fréquemment des « enzymes de filtration », qui ont comme but : de dégrader enzymatiquement les pectines, en ouvrant aux autres colloïdes le chemin de la précipitation ; d'abaisser la viscosité et, par voie de conséquence, d'améliorer la possibilité de filtration.

Certaines grandeurs de substances ayant la répartition colloïdale exercent parfois une très forte influence sur la filtration, car elles parviennent à pénétrer dans la ma-

tière filtrante et à y former une sorte de pont, en prenant appui de part et d'autre des pores, ce qui contribue au colmatage de la matière filtrante. Contrairement à ce qui vient d'être dit, les grosses substances troubles sont souvent beaucoup moins gênantes pour la filtration, car il est possible de les retenir à l'aide de plaques peu serrées, à larges pores.

Matériaux pour la filtration par alluvionnage et sur plaques

La matière la plus importante pour la filtration par alluvionnage ou la fabrication des plaques est constituée par des fibres fines spécialement traitées, d'origine organique ou inorganique. Parmi elles nous intéressent particulièrement le coton, la cellulose et l'amiante. Des substances granuleuses, notamment le kieselgur (terre d'infusoires), jouent aussi un rôle important, voire même prépondérant, non seulement dans la filtration par alluvionnage, mais également pour maintes sortes de plaques.

Comme pour toutes les matières premières mises à notre disposition par la nature et utilisées dans un but déterminé, les substances ci-dessus servant pour la filtration nécessitent une préparation et un traitement industriel soignés, basés sur une grande expérience.

Pour la filtration du vin l'amiante est indispensable. Les fibres élémentaires de ce minéral d'une nature particulière ne peuvent être décelées et mesurées qu'au microscope électronique. Leur épaisseur est d'environ deux cent-millièmes de millimètre. Plus les fibres sont fines, plus il est possible d'avoir dans les plaques des pores étroits.

Pour ce qui concerne les matières fibreuses alluvionnées ou bien les plaques filtrantes, comme il est dit précédemment, ce n'est pas l'effet d'adsorption, mais l'effet de tamisage qui joue un rôle déterminant dans l'efficacité de la filtration. De toute évidence la finesse de filtration et le rendement quantitatif sont influencés de façon décisive par la nature du tamis. La grandeur des pores détermine la finesse de filtration, la grandeur et le nombre de passages conditionnent le rendement global. Le diamètre des pores et la finesse de filtration peuvent être réalisés d'une manière extrêmement favorable, car lors de la filtration par alluvionnage, tout comme on le fait dans la fabrication des plaques, on forme les unes au-dessus des autres de nombreuses couches de tissus tamisants se composant de fibres minuscules. L'ensemble de la contexture présente un assemblage de fibres s'entrecroisant pêle-mêle en tous sens ; on peut donc à partir de ces données réaliser les diamètres de pores semblant s'adapter le mieux au type de matière filtrante en question.

L'importance de la préparation impeccable de la matière avec laquelle sont fabriquées les plaques filtrantes peut être mise clairement en relief en prenant comme exemple l'amiante. La nature a mis à notre portée des fibres d'une finesse inimaginable. Des rendements quantitatifs maxima avec une finesse de filtration poussée à un très haut degré pourraient théoriquement être envisagés en employant les fibres d'amiante les plus fines. La finesse des fibres influence directement la grandeur des pores, car en se servant, par exemple, de fils très grossiers pour un tissu métallique on parvient simplement à fabriquer un tamis à mailles relativement grosses ; par contre les fils métalliques très fins permettent de faire des tamis ayant des pores très serrés. De plus il est clair que la totalité des pores, c'est-à-dire des passages, et par conséquent la surface d'ouverture livrant passage au liquide, dépendent largement du degré de finesse des fibres mises en œuvre dans la fabrication des plaques.

De ce qui précède il résulte que l'amiante prend de plus en plus d'importance à mesure que la finesse de filtration du matériau en question doit être plus poussée. Mais d'un autre côté certaines fibres plus grosses, comme la cellulose et le coton, ont à remplir des tâches spéciales. Il existe même des plaques filtrantes pour lesquelles on a été amené à renoncer à l'emploi de l'amiante afin de leur donner une porosité exceptionnellement élevée ou des pores d'un diamètre extrêmement considérable.

Les filtres d'alluvionnage dont on se servait au début de la période de mise au point de la technique de filtration, concurremment avec les filtres à masse, étaient à l'origine uniquement alimentés en matière fibreuse. Pour la filtration par alluvionnage on dispose depuis très longtemps du kieselgur, désigné sous le nom de terre de diatomées, en raison de la nature de sa formation. Comme on le fait avec les fibres de cellulose les plus grosses, s'il s'agit de donner à la matière filtrante une plus grande porosité moyennant certaines concessions au point de vue finesse de filtration, on fait usage de kieselgur et on en incorpore dans les plaques. Cela est particulièrement important pour les plaques à grand rendement que l'on emploie avantageusement et avec un effet de clarification relativement bon, même pour les vins nouveaux insuffisamment préclarifiés.

Plaques filtrantes

La filtration par alluvionnage unique d'une certaine quantité de matière filtrante dans le filtre, comme cela se faisait autrefois, a perdu de plus en plus d'importance avec l'emploi de plaques toutes faites. On le comprend facilement, car la fabrication d'une vaste gamme de types de plaques a déchargé le maître de chais de beaucoup de travail pour la filtration tout en permettant d'atteindre un plus haut degré de sécurité sous le rapport de la clarification.

Il est possible de fabriquer des sortes de plaques différentes, si : on utilise des matériaux de nature variée ; on donne aux dits matériaux un traitement spécial ; on adopte les mélanges de matières selon les nécessités ; on varie la composition des mélanges ; on règle la finesse des pores et le pouvoir d'adsorption suivant les buts particuliers à atteindre ; on met les détails de la technique de fabrication soigneusement en harmonie avec la sorte de plaques désirée.

Il n'existe pas de plaques d'un usage *universel*. Leur nature doit être adaptée au liquide à filtrer. C'est ainsi que pour les vins nouveaux il est recommandé, au premier ou au second soutirage, de prendre surtout des plaques à grand rendement. Si l'on manque d'expérience avec les différents types de plaques, on fera des essais en commençant par les plus poreuses, pour passer à celles ayant des pores plus serrés, si la finesse de filtration laisse à désirer.

Indications pratiques pour la filtration sur plaques

Plus la conservation est avancée, plus on peut faire subir aux vins une filtration poussée, sans pour autant influencer défavorablement le rendement quantitatif. Dans le cas extrême de la filtration stérilisante, le vin doit être si possible parfaitement brillant pour décharger les plaques stérilisantes de toute autre tâche que celle de retenir les microorganismes.

Même avec les meilleures plaques on n'atteindra pas les résultats optima sans être familiarisé avec les principes théoriques et pratiques de la filtration. Dans le

cadre de cet exposé, il conviendrait de donner tout au moins quelques indications sur certains points à observer par le personnel des chais.

Il faut s'assurer constamment du bon état des filtres : ainsi par exemple un seul plateau endommagé peut être la cause d'une finesse défectueuse de filtration. Les plaques humides sont molles ; il est indispensable de leur donner un bon appui du côté de la sortie, sinon il se produit inévitablement à cet endroit un plissement et un allongement de la matière, donc l'élargissement néfaste des pores.

Les plateaux du filtre doivent être maintenus très propres afin d'empêcher des restes des plaques et les flocons de fibres de passer dans le filtrat.

Les plaques doivent être posées avec leur côté clair contre le plateau à clair, car du fait de leur fabrication leur côté clair a non seulement dans son aspect mais également dans la structure de son tissu fibreux une nature toute autre que le côté d'entrée.

Lors du passage de l'eau dans le filtre, ce qui a pour but de rendre les plaques suffisamment neutres au point de vue goût pour servir à la filtration du vin, l'eau ne doit pas traverser trop rapidement le filtre de crainte de modifier défavorablement le diamètre des pores. Il en est de même pour le passage de la vapeur pour la stérilisation. Ici encore on devra agir avec précaution, car un courant de vapeur trop rapide ou à une pression excessive pourrait nuire à la contexture fibreuse des plaques.

On devra tenir compte des limitations de la vitesse de passage du liquide recommandées par les fabricants selon la nature du filtre et des plaques. Il est non moins important de respecter les prescriptions sur la pression à ne pas dépasser. C'est en fait la vitesse de passage du liquide qui est *primordiale*, car c'est d'elle que résulte *en second lieu* une pression de hauteur déterminée. Il est en outre évident que la pression marquée par le manomètre d'entrée n'est pas seule à intervenir. Ce qui importe au contraire c'est la *différence de pression* entre l'entrée et la sortie du filtre : elle conditionne la pression qui charge les plaques quand elles sont humides et molles.

Avant le début de la filtration, le filtre doit être soigneusement purgé d'air. On veillera en outre à ce qu'il ne s'y produise aucune rentrée d'air pendant la filtration. L'air sous pression, s'il venait à traverser les plaques en même temps que le liquide, modifierait leur structure fibreuse, car il se dilaterait en se détendant lors de son passage à travers les plaques. On contrôlera donc tous les raccords du côté de l'aspiration de la pompe et notamment les presse-étoupes de son arbre, pour s'assurer qu'elle n'aspire pas d'air. Comme bien souvent on n'arrête pas en temps voulu la pompe au moment où l'air passe par le robinet du fût dans le conduit d'aspiration de la pompe avec le liquide à filtrer, il s'est révélé utile d'intercaler entre le filtre et la pompe une lanterne spéciale à flotteur. Elle coupe l'admission du filtre dès que l'air pénètre dans le conduit d'aspiration.

Les boissons contenant du gaz carbonique doivent être filtrées sous une contre-pression suffisante à établir du côté de la sortie du filtre. De cette façon on améliore tellement la solubilité de l'acide carbonique qu'il n'a plus tendance à se dégager.

Alimentation du filtre

Pour amener au filtre le liquide à filtrer on emploie aujourd'hui à peu près exclusivement des pompes centrifuges, au lieu des pompes à piston jadis en usage, afin de véhiculer sans à coup le liquide à filtrer. Pour utiliser de façon optimale le filtre et les plaques, il importe qu'après colmatage partiel par les matières troubles il soit possible d'augmenter suffisamment la pression et de maintenir ainsi un débit satisfaisant.

En opérant par gravité ou au moyen d'un gaz comprimé, on pourrait le cas échéant se dispenser de surveiller le déroulement de la filtration, si l'on ne tenait pas compte du fait qu'en employant l'air comprimé ou le gaz carbonique il est nécessaire de régler périodiquement le détendeur en cours de filtration afin d'empêcher le rendement de baisser trop fortement par suite du colmatage progressif des plaques.

Si l'on filtre par gravité, comme il est pratiquement impensable de régler la pression, il y a lieu en pareil cas de faire usage de plaques spéciales assurant un rendement global satisfaisant même à basse pression. Si dans le cas où l'on opère par gravité ou à l'aide d'un gaz comprimé on croit pouvoir se dispenser de surveiller le filtre pendant la plus grande partie de la filtration (le facteur temps perdant alors de son importance), une vitesse très faible de passage du liquide peut encore être rentable.

Temps de contact entre le vin et la couche filtrante

Cette constatation confirmée par l'expérience pratique amène à se demander combien de temps le liquide reste en contact avec la plaque dans le filtre. Cette durée croît avec l'augmentation de l'épaisseur de la plaque et diminue avec l'accélération de la vitesse du courant liquide. La durée de contact peut se calculer en connaissant le volume de la surface utile de la plaque et en le divisant par le débit de cette dernière.

Bien entendu les facteurs entrant en relation les uns avec les autres ainsi que les chiffres enregistrés doivent entrer en ligne de compte avec une précision mathématique. Comme norme pour la filtration sur plaques, en adoptant le mode de calcul indiqué, on obtient en filtration clarifiante, avec des plaques de porosité moyenne et une vitesse de courant normale, une durée de passage du liquide à travers les plaques d'environ une demi-minute.

Des calculs de cette sorte montrent combien dans les filtres modernes les plaques sont l'objet de ménagements. Le liquide les traverse aisément et la rétention des particules troubles se fait sans emploi de la force, mais au contraire dans le plus grand calme.

Filtration sur terre d'infusoires

Un procédé entièrement différent de la filtration avec alluvionnage unique de matières fibreuses à l'état libre ou à l'aide de plaques filtrantes, c'est celui que représente la filtration au kieselgur. En employant de la terre de diatomées on fait presque exclusivement usage de la méthode de dosage continu. Cela veut dire qu'il faut ajouter en permanence la sorte et la quantité de kieselgur semblant les meilleures pour obtenir une efficacité de clarification impeccable avec un rendement quantitatif satisfaisant.

Dans le filtre équipé de cadres au lieu de plateaux à trouble on emploie pour la filtration au kieselgur non plus des plaques filtrantes, mais ce que l'on appelle des « plaques supports », de très grande porosité. En raison de la dimension de leurs pores elles ne sont plus à considérer comme plaques filtrantes au sens strict du mot. Leur unique tâche est de retenir les petites particules de kieselgur.

Avant la filtration proprement dite a lieu un alluvionnage préalable à raison d'environ 500 grammes par mètre carré de surface filtrante, ce qui, suivant la sorte, donc le poids spécifique, la grandeur et la forme des particules des diatomées, permet de réaliser une couche de kieselgur de près de deux millimètres d'épaisseur.

Le but de cette précouche consiste à fournir au début de la filtration une quantité suffisante de produit filtrant proprement dit, pour qu'aucune particule trouble du liquide à filtrer ne puisse pénétrer dans les plaques supports. Celles-ci sont lavables et peuvent resservir. Sans la précouche, elles seraient progressivement obstruées par les matières troubles ; il en résulterait une baisse du rendement.

Au lieu des filtres à plaques usuels, transformés de la façon décrite ci-dessus par l'emploi de cadres creux pour emmagasiner de grosses quantités de kieselgur, il existe divers autres types de filtres. Ils sont pour la plupart prévus pour la filtration par alluvionnage continu et garnis de tamis métalliques, de toiles, de frittes en verre, en argile ou en métal, ou d'autres matières poreuses pour retenir le kieselgur.

Evidemment pour une qualité donnée de kieselgur le dosage doit si possible être réglé de façon optimale selon la nature et la teneur du trouble et la viscosité du liquide à filtrer. Le dosage de kieselgur devra donc être *suffisant* mais *non excessif*. Cela n'est pas si simple, car s'il s'agit d'un gros fût, les facteurs cités comme exerçant une influence sur la possibilité de filtration sont soumis à certaines variations pendant la vidange du liquide à filtrer.

Quant fut lancé le procédé de filtration au kieselgur, on a d'abord employé la méthode dite « par délayage ». Elle consistait à mélanger, en la remuant dans le liquide à filtrer, la quantité de kieselgur jugée nécessaire et à envoyer ensuite ce mélange dans le filtre au moyen de pompes à kieselgur, ainsi nommées. L'agitation n'étant pas continue, il était impossible d'obtenir le rendement optimal de filtration, car dans l'intervalle des remuages les particules lourdes de kieselgur se déposaient rapidement, la relation devant exister entre celui-ci et le liquide à filtrer cessant alors d'être favorable. L'irrégularité du dosage réalisé dans ces filtrations se constatait facilement par la coupe du gâteau de kieselgur s'étant accumulé dans les chambres du filtre : au lieu d'être régulièrement coloré par le trouble, le gâteau formait des couches tantôt claires tantôt sombres.

Appareils doseurs pour la terre d'infusoires

Ayant recueilli de l'expérience, on en est venu à la construction de bons doseurs de kieselgur, offrant en outre l'avantage de s'intercaler entre la pompe et le filtre. Ainsi a été supprimée la nécessité d'utiliser des pompes spéciales pour kieselgur, les pompes n'étant plus exposées à l'effet abrasif des particules sableuses de kieselgur.

Il y a des doseurs qui pendant la filtration nécessitent une surveillance constante pour que le dosage réponde aux exigences imposées et des doseurs semi-automatiques demandant un seul réglage en début de filtration, à condition toutefois de l'adapter à la nature particulière du liquide à filtrer et à celle du kieselgur utilisé.

On est du reste en mesure d'affirmer que l'évolution des doseurs et plus spécialement des filtres à kieselgur n'est pas encore arrivée à son terme et que dans ce domaine également l'industrie s'efforce de tenir compte toujours davantage des exigences de la pratique. Il y a lieu de noter en particulier que les filtres actuellement en usage (et devant être généralement désignés comme appareils de chais) ont été complétés pour les grosses entreprises par les machines à filtrer, méritant cette dénomination, car elles combinent tout ce dont on a besoin pour le dosage, l'acheminement du vin et sa filtration, y compris les moteurs et les pompes.

Par ailleurs il est intéressant de constater que les bons résultats obtenus en filtration au kieselgur des vins nouveaux très troubles ont amené à rechercher d'autres produits susceptibles de remplacer le kieselgur.

A ce sujet les « Perlites » ont fait beaucoup parler d'elles. Ces substances, dont la matière brute et la préparation sont totalement différentes de celles du kieselgur, ont déjà été employées avec succès en brasserie surtout pour la filtration des moûts, mais dans le domaine de la clarification du vin on ne peut parler pour l'instant que de sondages prudents quant aux chances de la Perlite de remplacer le kieselgur.

Stérilisation par filtration

Le temps alloué pour le rapport sur la filtration du vin étant très restreint (il s'agit en effet d'un domaine extrêmement considérable), impose de traiter ce thème sous forme d'extrait concentré. La filtration sur plaques stérilisantes ne sera elle aussi que simplement esquissée.

Il faut en premier lieu expliquer ce que l'on entend par « stérilisation » du vin. Si l'on emploie le procédé de tirage stérile à froid du vin, il s'agit avant tout d'éliminer totalement les levures du liquide à filtrer. Par contre les champignons de moisissure ne sont pas à craindre, ces microorganismes n'ayant dans le vin, par suite de sa haute teneur en alcool, aucune chance de développement. Il en va un peu autrement pour les bactéries. Spécialement avec des vins ayant une teneur relativement élevée d'acidité totale, on n'aura à redouter aucun inconvénient si quelques uns de ces « schizomycètes » pénètrent dans la bouteille pendant le soutirage. Comme on le sait, les bactéries ne trouvent pas en milieu acide des conditions favorables de développement.

Les plaques stérilisantes généralement employées dans l'industrie vinicole doivent, grâce à la finesse de leurs pores, donner la garantie de retenir pendant la filtration toutes les cellules de levure *sans exception* et en outre *presque* toutes les bactéries. Selon notre expérience, pour ce qui concerne la finesse des pores, on doit se garder en œnologie de pousser les choses à l'extrême, au point de chercher à éliminer impeccablement jusqu'aux plus petites bactéries pouvant exister dans la flore des microorganismes du vin. Il est plus raisonnable de tenir compte des données spéciales, c'est-à-dire des impératifs biologiques résultant du soutirage stérile, et ce dans le sens précédemment esquissé. La finesse de plus en plus poussée des pores entraîne en effet inévitablement une certaine baisse de rendement. En les réduisant exagérément, on rendrait trop onéreux les frais de filtration. Par ailleurs, comme le montre l'exemple de ce que l'on nomme les plaques « Sérum », des conditions de plus en plus rigoureuses peuvent être imposées concernant le pouvoir stérilisateur des plaques filtrantes : dans les industries les plus importantes s'occupant de la fabrication des solutions injectables et des sérums on pratique depuis des années avec grand succès la filtration stérilisante. En pareil cas ce ne sont pas seulement les microorganismes, mais les virus qu'il s'agit d'éliminer par filtration.

Conseils pratiques pour la filtration stérilisante

Le problème de l'élimination des germes du vin au moyen de la filtration, même en adoptant la qualité de plaques voulue et en opérant selon les règles, ne peut être convenablement résolu que si le filtre est stérilisé avant le début de la filtration. A cet effet on emploie généralement la vapeur à basse pression. On fait ensuite passer l'eau suivant le procédé usuel avant de commencer la filtration du vin proprement dite.

On se pose fréquemment la question : pendant combien de temps les plaques EK peuvent-elles servir ? Dans l'industrie vinicole on devrait prendre pour règle

de garnir le filtre seulement du nombre de plaques stérilisantes strictement nécessaires pour filtrer en une seule opération, c'est-à-dire en une journée. Si par la suite les plaques ne sont pas encore épuisées, on peut les employer pour la stérilisation les jours suivants. Cependant il faut chaque jour ou au moins tous les deux jours refaire passer la vapeur par le filtre pour le stériliser à nouveau.

En ce qui concerne la pression maximale prescrite pour le filtre, on s'écarte légèrement des directives données pour la filtration clarifiante : avec les plaques EK la différence de pression entre l'entrée et la sortie ne doit pas dépasser 1 500 g. De même pour la vitesse de passage du liquide, il importe selon l'expérience d'être particulièrement prudent et de la limiter à environ 50 litres par heure et par plaque de 40 × 40 cm.

Filtration stérilisante et qualité

Finalement nous allons examiner la question suivante : quelle influence la filtration stérilisante peut-elle avoir sur la qualité du vin ? Abstraction faite des vins rouges, on peut affirmer qu'en général la qualité du vin dépend à peu près exclusivement des composants *véritablement dissous*, se trouvant par conséquent répartis à l'état unimoléculaire dans le vin. Cela s'applique notamment aux acides, alcools, sucres, substances lui communiquant la saveur et le bouquet. Des dizaines d'années d'expérience en œnologie ont sans cesse confirmé que les bonnes qualités du vin se manifestaient d'autant mieux qu'elles étaient moins « cachées » par une forte teneur en colloïdes ou en matières en suspension. Pour les vins blancs on ne peut donc jamais craindre une filtration trop poussée ou trop serrée. Pour les vins rouges cependant, il peut se faire que lors de l'élimination complète des levures une fraction des matières colorantes se trouve également retenue, dans la mesure où les colloïdes de la coloration, par suite de leurs dimensions, sont susceptibles d'être éliminés comme conséquence de la finesse de filtration. Il faut donc recourir à la dégustation du vin filtré stérilement comparativement au vin non filtré pour décider en toute connaissance de cause si l'on doit parler d'une perte de qualité ou au contraire d'une amélioration de la qualité du vin filtré stérilement. Pour ces vérifications il serait bon toutefois de prévoir diverses périodes de développement en cours d'entreposage du vin stérilisé par filtration et de celui n'ayant pas subi ce traitement. Si même pour les vins rouges on est parfois contraint d'envisager au moins *provisoirement* une légère perte de coloration comme conséquence de la filtration très serrée, cela peut changer après une certaine durée d'entreposage dans la mesure où l'*éclat* et par conséquent la belle présentation du vin rouge ayant été l'objet d'une filtration poussée, se conservent mieux que ceux des vins simplement clarifiés, mais non stérilisés.

En outre dans la formation de la saveur des vins blancs comme des vins rouges certains processus de développement dus aux enzymes jouent dans la bouteille un rôle très important. Là il est inconcevable que la filtration serrée puisse avoir des répercussions défavorables. Les transformations qui s'opèrent indépendamment de la microflore du vin et qui interviennent dans sa maturité et dans son élevage ne sont aucunement contrariées par la filtration stérilisante.

Expérience de la filtration stérilisante

Les nombreux milliards de litres de vin tirés stérilement avec succès au cours de dizaines d'années antérieures (la filtration stérilisante représentant le facteur essentiel de l'ensemble de ce procédé) prouvent nettement que les plaques stérilisantes sont

mises aujourd'hui sur le marché avec toute la sécurité exigée par la pratique. La filtration stérilisante démontre également de façon irréfutable le haut degré de perfection atteint de nos jours par l'œnologie à partir des recherches de PASTEUR, qui lui ont ouvert la voie.

Puisse le progrès ultérieur de l'œnologie, réalisé en étroite collaboration entre la science, l'industrie et la pratique, contribuer à ce que le produit fourni par le raisin fasse de plus en plus honneur à la viticulture.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

W. GEISS. *Kaltsterile Abfüllung von Wein.* J. Diemer, Mayence, 1957.

W. GEISS. *Lehrbuch für Weinbereitung und Kellerwirtschaft*, Bad Kreuznach, 1960.

RÉSUMÉ

La filtration des vins a une importance décisive pour le traitement des vins jusqu'à la mise en bouteilles.

La séparation des troubles par les produits filtrants repose sur l'adsorption et le tamisage.

Dans le vin sont présents des substances dissoutes à l'état moléculaire, des colloïdes de diverses dimensions et des substances plus grossières en suspension.

Parmi les différentes matières premières pour l'élaboration des produits filtrants, l'amiante est particulièrement précieux, surtout pour la réalisation de plaques filtrantes à pores très fins. Pour tous les matériaux, la préparation convenable a une grande importance.

Les filtres qui étaient préparés par formation d'une seule couche filtrante, par encollage unique, ont été en réalité remplacés par des filtres à plaques préfabriquées et des filtres à terre d'infusoires (Kieselgur) avec alluvionnage continu avec doseur.

Pour filtrer avec l'optimum de succès, on doit observer les principes dont l'importance a été mise en évidence dans les recherches et les expériences pratiques poursuivies durant plusieurs dizaines d'années.

Pour la filtration sur terre d'infusoires, on dispose de nouveaux appareils doseurs. Ils ont, entre autres, le grand avantage d'éviter que la pompe d'alimentation du filtre soit soumise à l'action abrasive de la terre d'infusoires.

La filtration la plus serrée réclamée par le travail des chais est atteinte par les plaques stérilisantes. Elles séparent les microorganismes nuisibles pour le vin et rendent possible, dans le cadre de l'embouteillage stérile, la stabilisation biologique du vin.

FILTRATION OF WINES - FILTRATION WITH CONTINUOUS ADDITION OF FILTER POWDER AND STERILE FILTRATION

W. GEISS

SUMMARY

Wine filtration is most important in wine treatment up to bottling time.

Separation of turbidity by means of filtering aids is based upon adsorption and straining.

Wine contains dissolved substances in a molecular form, colloids of various sizes and somewhat coarser substances lying in suspension.

Among the various raw materials used for filters, asbestos is particulary valuable for making filtering plates with very fine pores. For all materials concerned a proper preparation is very important.

Filters which used to be prepared by means of a single filtering layer, with only one clearing, have in fact been replaced by filters with prefabricated plates and by diatomaceous silica filters (Kieselgur), with a continuous depositing, in which dosimeters are used.

In order to get the highest efficiency in filtration, one must keep to the principles the importance of which has been shown through researches and experiments which have been carried on for several decades.

With regard to diatomaceous silica filtration new dosing devices are now available. Their greatest advantage is that they prevent the filter feed-pump from being subject to the abrasive action of diatomaceous silica.

The closest filtration such as is required for the treatment of wine in cellars is carried out by means of sterilizing plates. These separate the microorganisms harmful to wine and make the biological stabilization of wine possible, with respect to sterile bottling.

ANSCHWEMM-FILTRATION DER WEINE SCHICHTEN - UND ENTKEIMUNGSFILTRATION

W. GEISS

ZUSAMMENFASSUNG

Die Filtration der Weine hat eine ausschlaggebende Bedeutung für die Weinbehandlung bis zur Abfüllung.

Die Trubabtrennung durch das Filtriermaterial beruht auf Adsorption und Siebwirkung.

Im Wein sind echt gelöste Stoffe, Kolloide verschiedener Dimensionen und Substanzen in gröberer Zerteilung enthalten.

Von den verschiedenen Rohstoffen für die Filtriermaterial-Herstellung ist der Asbest besonders wertvoll, vor allem für die Fertigung feinporiger Filterschichten. Bei allen Materialien kommt der sachgemässen Aufbereitung eine grosse Bedeutung zu.

Die Filter, die durch eine einmalige Anschwemmung von Filtriermaterial für die Weinklärung vorbereitet werden, sind im wesentlichen durch die Schichtenfilter und die Kieselgurfilter (Dosierverfahren) verdrängt worden.

Um mit optimalem Erfolg zu filtrieren, müssen die Grundsätze beachtet werden, die sich aus jahrzehntelanger Forschung und Erfahrung als wichtig herausstellten.

Für die Kieselgurfiltration stehen neuzeitliche Dosiergeräte und-maschinen zur Verfügung. Sie haben u. a. den grossen Vorteil, dass die Förderpumpen nicht mehr der verschleissenden Wirkung der Gur ausgesetzt sind.

Die für die Kellerwirtschaft infrage kommende schärfste Filtration wird durch entkeimende Schichten erreicht. Sie trennen die weinschädlichen Mikroorganismen aus dem Filtergut ab und ermöglichen im Rahmen der Kaltsterilfüllung die biologische Stabilisierung des Weines.

LA FILTRAZIONE DEI VINI. FILTRAZIONE AD ALLUVIONE CONTINUA E FILTRAZIONE SU PLACCHE STERILIZZANTI

W. GEISS

RIASSUNTO

La filtrazione dei vini ha una importanza decisiva per il trattamento dei vini fino all'imbottigliamento.

La eliminazione degli intorbidamenti tramite prodotti filtranti riposa sull'adsorbimento e sulla vagliatura.

Nel vino son presenti delle sostanze disciolte allo stato molecolare, dei colloidi di diverse dimensioni e delle sostanze più grossolane in sospensione.

Tra le differenti matérie prime per l'elaborazione dei prodotti filtranti, l'amianto è particolarmente prezioso, soprattutto per la realizzazione di placche filtranti a pori molti fini. Per tutti i materiali una adatta preparazione è di fondamentale importanza.

I filtri, che una volta erano preparati per formazione di un solo strato filtrante, per incollatura unica, sono stati in realtà sostituiti da filtri a placche prefabbricate e da filtri a tèrra d'infusori (Kieselgur) ad alluvione continua con dosatore.

Per ottenere il massimo di successo nella filtrazione, bisogna osservare i principi, la cui importanza è stata messa in evidenza dalle ricerche e dalle sperimentazioni pratiche realizzate nel corso di molte diecine d'anni.

Per la filtrazione su tèrra d'infusori, si dispone di nuovi apparecchi dosatori. Essi hanno, tra l'altro, il grande vantaggio d'evitare che la pompa d'alimentazione del filtro sia sottomessa all'azione abrasiva della tèrra d'infusori.

La filtrazione più spinta richiesta dal lavoro di cantina è ottenuta colle placche sterilizzanti. Queste séparano i microorganismi nocivi al vino e rendono possibile, nel quadro dell'imbottigliamento sterile, la stabilizzazione biologica del vino.

LA FILTRACIÓN DE LOS VINOS. FILTRACIÓN CON APORTE CONTINUO Y FILTRACIÓN EN PLACAS ESTERILIZANTES

W. GEISS

RESUMEN

La filtración de los vinos tiene una importancia decisiva para el tratamiento de los vinos hasta el embotellado.

La separación de las turbideces por los productos filtrantes se basa en la adsorción y el tamizado.

En el vino se encuentran presentes substancias disueltas al estado molecular, coloides de diversas dimensiones y substancias más gruesas en suspension.

Entre las diferentes materias primas para la elaboración de los productos filtrantes, el amianto es particularmente útil, sobre todo para la fabricación de placas filtrantes de poros muy finos. Para todos los materiales, la preparación conveniente tiene una gran importancia.

Los filtros que eran preparados por formación de una sola capa filtrante, por encolado único, han sido en realidad reemplazados por filtros de placas prefabricadas y filtros de tierra de infusorios (Kieselgur) con aporte continuo, con dosificador.

Para filtrar con el óptimo de eficiencia, se deben observar los principios cuya importancia ha sido mostrada en los investigaciones y las experiencias prácticas realizadas durante varias décadas.

Para la filtración con tierra de infusorios, se dispone de nuevos aparatos dosificadores. Tienen, entre otras, la gran ventaja de evitar que la bomba de alimentación del filtro esté sometida a la acción abrasiva de la tierra de infusorios.

La filtración más energica, requerida para el trabajo de la bodegas, se alcanza con las placas esterilizantes. Estas separan los microorganismos nocivos para el vino y hacen posible, dentro del embotellado estéril, la estabilización biológica del vino.

DISCUSSION

M. VALAIZE (Béziers) : Quelle est la granulométrie du kieselgur recommandée en fonction du trouble des vins ?

Réponse : Pour la filtration des vins on utilise avec succès des terres d'infusoires de moyenne grosseur. Dans des cas exceptionnels seulement, on ajoute une proportion de 10 à 30 % de kieselgur très fin, pour séparer les suspensions les plus fines et les colloïdes les plus grossiers. Le tableau suivant donne les pourcentages des particules de kieselgur suivant leur grosseur pour deux qualités, c'est-à-dire pour la qualité normale utilisée couramment dans la filtration des vins, dénommée « qualité poreuse », et pour la qualité plus fine.

	Diamètre des particules en mm					
	0,001	0,002	0,005	0,01	0,02	0,05
Qualité poreuse	1 %	3 %	18 %	33 %	25 %	20 %
Qualité fine	20 %	12 %	23 %	30 %	12 %	3 %

M. PEYNAUD (Bordeaux) : Je voudrais demander à M. GEISS s'il pense que le lavage préalable aux acides est indispensable dans la préparation de kieselgur pour la filtration des vins ?

Réponse : Dans la plupart des cas, le produit naturel a une composition irréprochable et un traitement chimique est inutile. Cependant lorsque, par exemple, la teneur en combinaisons ferriques est anormalement élevée, il appartient à l'industrie d'amener le produit au degré de pureté souhaité, grâce à un traitement physique ou chimique. Les observations faites dans la pratique ont montré qu'à ce sujet les souhaits des techniciens du vin étaient réalisés et qu'en conséquence un traitement supplémentaire était inutile chez l'utilisateur.

M. JAULMES (Montpellier) : Le lavage des diatomites du commerce me paraît indispensable, car j'ai souvent trouvé dans le commerce des diatomites qui cédaient du fer et du calcium aux vins.

Réponse : On peut toujours choisir un produit qui ne présente pas ces défauts et, d'autre part, le lavage préalable détériore la structure et altère le pouvoir filtrant.

PROPRIÉTÉS CLARIFIANTES DES ENZYMES PECTOLYTIQUES

G. MARTEAU

Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Montpellier (France)

Progrès des connaissances fondamentales concernant les enzymes pectolytiques

Les dix dernières années ont vu l'accomplissement de quelques progrès dans la connaissance du mécanisme de la dégradation enzymatique des matières pectiques.

Nous croyons nécessaire d'entamer notre exposé par un très bref aperçu de ce que l'on sait de nouveau dans ce domaine, sans qu'il nous soit possible cependant, dans le cadre de ce rapport, de procéder à une analyse détaillée des nombreux travaux ayant contribué à éclaircir un problème qui demeure complexe.

Nous nous appuierons volontiers sur l'excellente mise au point publiée en 1957 par Demain et Phaff (1) qui conduit ces auteurs à proposer une classification des enzymes pectolytiques tenant compte de l'ensemble des travaux parus jusqu'alors ; citons, parmi eux, ceux de Seegmiller et Jansen (1952) ; de Roboz et Barrat (1954) ; Deuel, Solms et Altermatt (1953) ; McCready et Owens (1954) ; Orgell (1955) ; Phaff et Demain (1955) ; Saito (1955) ; Brooks et Reid (1955), etc. Il ne semble pas que les quelques publications parues depuis sur ce sujet (1 à 8) soient venues infirmer la mise au point de ces auteurs, servant de base à une classification rationnelle des enzymes pectolytiques. En ce qui concerne la pectine méthyl-estérase (P.E.), l'enzyme catalysant l'hydrolyse des groupements méthoxyles de la pectine transformant cette dernière en acides pectiniques puis en acide pectique, il ne semble pas que des connaissances nouvelles soient venues compléter notablement ce que l'on sait déjà depuis longtemps.

Par contre, des connaissances nouvelles extrêmement précieuses aident maintenant à mieux comprendre le mécanisme de la dégradation de la grosse molécule pectique par attaque de la liaison glucosidique 1-4 reliant chacun des maillons de la chaîne polygalacturonique. Il y a encore quelques années, cette dégradation était attribuée à une seule enzyme d'abord appelée pectinase, puis polygalacturonase (P.G.). L'ensemble des travaux mentionnés plus haut montre l'existence de deux types d'enzymes P.G. conduisant l'attaque de deux façons différentes :

1 — Celles qui attaquent la liaison glucosidique en un point quelconque de la chaîne pectique, scindant très rapidement la molécule en de nombreux fragments et

provoquant de la sorte une chute très rapide de la viscosité. La vitesse d'attaque décroît rapidement dans ce cas à partir du moment où 25 à 50 % des liaisons ont été hydrolysées ; elle devient nulle ou extrêmement lente lorsque le stade des acides tri et digalacturoniques est atteint. Ce premier type d'enzyme ne permet donc pas d'aboutir à une dégradation totale en acide galacturonique.

2 — Un deuxième type de polygalacturonase attaque la liaison glucosidique à l'extrémité de la molécule pectique. Dans ces conditions, la libération des groupements réducteurs ne modifie que lentement la taille des molécules et ne s'accompagne donc pas d'une diminution rapide de la viscosité. L'acide galacturonique constitue le terme normal de la dégradation.

Les enzymes du premier type sont désignées par le préfixe « endo », celles du deuxième type par le préfixe « exo ». Lorsque l'attaque est spécifiquement réalisée sur l'acide pectique de préférence à la pectine, DEMAIN et PHAFF distinguent : l'endo-polygalacturonase et l'exopolygalacturonase.

Lorsqu'au contraire le substrat de choix est constitué par la pectine non déméthoxylée, on distingue : l'endopolyméthylgalacturonase et l'exopolyméthylgalacturonase. Il semble bien que ce soient les deux premières enzymes, attaquant spécifiquement l'acide pectique, qui soient les plus répandues et les plus sûrement caractérisées.

En ce qui concerne la protopectinase, l'incertitude demeure encore : en effet, l'existence réelle d'une enzyme distincte, assurant à l'intérieur des tissus végétaux la dissolution des formes insolubles de la pectine, ne semble pas encore nettement élucidée. La tendance générale, comme l'exprime KERTESZ (9), attribue soit à l'endo-polygalacturonase, soit à l'endopolyméthylgalacturonase les transformations d'une hypothétique protopectinase dont des publications récentes tendraient cependant à accréditer l'existence (10).

Quelles sont les incidences de ces connaissances fondamentales sur le plan général de la technologie des produits alimentaires ?

Elles sont considérables. En particulier, la différenciation entre endoenzymes et exoenzymes que l'on retrouve dans le processus de destruction d'autres types de macromolécules, notamment parmi les protéases et les amylases, revêt une importance majeure : d'une façon générale en effet, l'action initiale des endoenzymes provoque essentiellement les conséquences technologiques liées à la diminution de la taille des molécules (transformation de la solution colloïdale en solution vraie, diminution de la viscosité, etc.).

Les exoenzymes joueront un rôle dans la technologie, surtout par la libération qu'elles provoquent, des produits terminaux de la dégradation (apparition de sucres fermentescibles, d'acides aminés assimilables par les microorganismes, etc.). En ce qui concerne les enzymes pectolytiques, il n'a pas encore été démontré, semble-t-il, que l'acide galacturonique joue un rôle considérable, encore faudrait-il pour l'affirmer que ce rôle soit davantage étudié. Nous verrons qu'au contraire, la destruction des molécules pectiques par les diastases du type « endo » est technologiquement fondamentale.

LES APPLICATIONS DES ENZYMES PECTOLYTIQUES EN ŒNOLOGIE - LA CLARIFICATION

Ces applications sont bien connues ; c'est pourquoi nous n'en parlerons pas très longuement, désirant surtout essayer de préciser certains aspects du mécanisme de leur action, à la lumière des connaissances fondamentales que nous venons d'exposer.

Une abondante littérature citée en référence (11 à 16), fournit à ce sujet des données assez concordantes concernant l'action de diverses préparations commerciales ou non. Il n'est cependant pas tenu compte le plus souvent du rôle joué par les enzymes naturelles du raisin pouvant conduire plus lentement à des transformations identiques. Ce fait est pourtant important puisqu'il explique l'une des caractéristiques les plus marquantes de l'emploi des diastases commerciales : la nécessité de leur emploi aussi précoce que possible ; il est en effet évident que si l'addition de produits commerciaux ne fait qu'accélérer des transformations naturelles, les effets à attendre d'un traitement par ces produits, deviennent de moins en moins marqués, de moins en moins justifiables, au fur et à mesure que l'évolution naturelle se poursuit.

C'est pourquoi le traitement par les enzymes concerne en général les toutes premières phases de la technologie du raisin, la tendance générale conduisant à une utilisation précoce de celles-ci, dès après le foulage, avant même l'extraction du jus. On gagne de la sorte un avantage considérable, une facilité accrue d'extraction et finalement une augmentation de rendement en jus pouvant être fort spectaculaire (6-13). Cette intéressante propriété souffrirait de longs développements ; elle évoque en particulier la probabilité d'une activité protopectinasique des préparations commerciales, que cette activité soit due ou non à l'action d'une protopectinase spécifique ; mais elle échappe à notre sujet qui nous ramène à la clarification.

Cette clarification, tous les auteurs s'accordent à noter son intervention plus rapide dans les produits traités. Cela peut se traduire par un dépôt plus rapide des grosses bourbes qui peut avoir un intérêt pratique lorsque le débourbage est pratiqué en vinification en blanc. Cependant, dans les moûts naturellement riches en enzymes pectolytiques, la vitesse de sédimentation des bourbes peut ne pas être supérieure à celle du témoin non traité (17).

C'est surtout la seconde phase de la clarification qu'accélère l'action des diastases ajoutées : masqué le plus souvent par le départ de la fermentation, elle est caractérisée sur le jus au repos lorsqu'il est stabilisé, par une floculation suivie du dépôt d'un sédiment très léger. En vinification, au terme de la fermentation, les vins obtenus bénéficient aussi, lorsqu'ils sont traités, d'une clarification spontanée nettement accélérée. Le maximum d'efficacité peut être atteint lorsque l'emploi des préparations commerciales est conjugué avec le réchauffage des vendanges aux environs de la température optimale des enzymes, vers 40-50 °C pendant 1 h, ce qui assure à la fois, non seulement la facilité d'extraction du jus, l'accélération de la clarification, mais en vinification en rouge, une importante dissolution de la matière colorante pouvant permettre l'obtention de vins rouges par fermentation du jus préalablement séparé (18-21). La digestion des cloisons cellulaires assurerait, dit-on, aussi une meilleure extraction des arômes.

Les propriétés clarifiantes des enzymes pectolytiques peuvent aussi se manifester utilement par l'accélération de la vitesse de filtration des moûts, telle qu'elle peut être souhaitée pour l'obtention de certains vins spéciaux ; notons par exemple les conclusions favorables à cet égard de Geoffroy et Perin (19) en Champagne, de Tarantola (20) dans le cas de l'Asti spumante. Cependant, le bénéfice de l'opération tend à s'atténuer au fur et à mesure que les enzymes naturelles provoquent une évolution identique, liée comme nous le verrons, à la diminution de la viscosité des jus ; nous avons eu cependant l'occasion de constater qu'au bout de deux mois, la filtrabilité des produits traités demeure le plus souvent dans les moûts stabilisés supérieure à celle des témoins non traités ; cela tendrait à prouver qu'à la longue, les diastases d'origine externe font quelque chose de plus que les diastases naturelles du raisin.

Les bons résultats obtenus parfois lors de traitements effectués longtemps après

la récolte de vins manifestant un trouble persistant, notamment de certains vins de presse (22), en sont une autre preuve.

Ces dernières constatations nous amènent à nous pencher maintenant plus attentivement sur la nature des préparations commerciales, et sur les effets secondaires qu'elles sont susceptibles de produire, en dehors de l'activité pectolytique proprement dite que nous analyserons plus en détail par la suite.

Les préparations commerciales d'enzymes pectolytiques, leurs effets secondaires

Les préparations commerciales d'enzymes pectolytiques sont généralement obtenues à partir d'un certain nombre de moisissures appartenant notamment aux genres *Aspergillus (A. niger, A. fumigatus, A. oryzae)*, *Penicillium (P. expansum P. chrysogenum)*, *Botrytis (B. cinerea)*, *Neurospora (N. crassa)*, etc. (23, 24).

Parmi un certain nombre de sources, une étude japonaise récente (25) note une activité pectolytique particulièrement élevée dans une souche de *Coniothyrium diplodiella*. Les conditions de culture et en particulier la nature du milieu nutritif utilisé pour la croissance de ces moisissures influent notablement sur l'activité des préparations, qui sont commercialisées après une purification et une standardisation plus ou moins poussée.

Ce qu'il faut souligner, c'est qu'en aucun cas la purification est suffisamment poussée pour ne laisser subsister que les enzymes pectolytiques proprement dites ; la présence dans diverses préparations d'amylases, de protéases, de cellulase, de xylanase, a été notamment signalée. Reid (26) en particulier, décèle en 1950 par chromatographie sur papier, la présence à peu près constante d'arabinose, de galactose, de xylose, parmi les produits d'hydrolyse enzymatique de polysaccharides de diverses origines ; il attire l'attention sur l'importance technologique de ce phénomène qui pourrait jouer un certain rôle dans la diminution de viscosité des liquides naturels traités par les diastases commerciales.

Avec nos collègues Scheur et Olivieri (27), nous avons repris les mêmes expériences sur les polysaccharides du raisin, extraits par l'acétone et l'alcool ; le traitement par sept préparations commerciales différentes d'une solution aqueuse à pH 4 de ces polysaccharides libérait plus ou moins rapidement à côté de l'acide galacturonique, aussi bien de l'arabinose que du galactose.

Si la présence de ces derniers sucres en tant que partie constitutive de la molécule pectique n'est plus admise aujourd'hui, certains auteurs pensent encore qu'arabanes et galactanes peuvent être reliées aux chaînes polygalacturoniques, dans les polyuronides naturels, par des liaisons secondaires. Cette affirmation est contredite par un certain nombre de faits parmi lesquels il convient de noter la démonstration faite par Usseglio-Tomasset (28) de la différence de mobilité électrophorétique entre les pectines et les pentosanes. Quoi qu'il en soit, et c'est cela que nous retiendrons, il n'est pas exclu que les effets technologiques du traitement par les diastases commerciales ne puissent être pour une part attribués à la dégradation des pentosanes et des hexosanes englobées dans le cas du vin sans le terme général de gommes. Peut-être faut-il trouver là l'explication des résultats positifs obtenus pour le traitement de vins manifestant longtemps après la récolte un trouble persistant. Les pectines vraies étant généralement hydrolysées pour leur plus grande part, il est fort possible que le processus de la clarification trouve, tout au moins dans certains cas, son point de

départ dans l'hydrolyse des gommes qui représentent, comme l'a montré particulièrement PEYNAUD (29), l'essentiel des polyholosides du vin.

Un autre aspect important des actions secondaires des préparations pectolytiques commerciales résulte de leur éventuelle activité oxydasique. Nous savons le rôle néfaste de l'oxydation intervenant au cours des premières phases de la technologie du raisin, notamment du point de vue des modifications de couleur qu'elle occasionne; il s'agit là d'un problème crucial préoccupant en particulier les fabricants de jus de raisin.

Quel rôle peuvent jouer à cet égard les diastases commerciales ? Les effets constatés sont assez variables ; ils dépendent évidemment du cépage, des conditions d'emploi et aussi de la nature de la préparation commerciale ; c'est ce qui ressort nettement des résultats de BERG (17), concernant la vitesse de brunissement de moûts de cinq cépages traités par trois préparations diastasiques différentes.

Nous avons noté pour notre part des différences très notoires entre cinq produits commerciaux, dans leur aptitude à provoquer en présence d'air une évolution vers le jaune de la couleur de moûts de vendanges rouges traités par eux : l'un des produits essayé semblait imprimer au moût traité une résistance meilleure que celle du témoin ; trois autres produits ont agi défavorablement, mais d'une façon très peu marquée ; le cinquième produit manifestait une action particulièrement défavorable, accélérant très nettement le jaunissement de la couleur à l'air.

Cette présence éventuelle dans les produits commerciaux de facteurs favorisant l'oxydation des moûts ou des vins est, croyons-nous, un point sur lequel les fabricants doivent porter toute leur attention, car elle peut être le principal obstacle à l'utilisation des produits présentant ce défaut.

LE MÉCANISME DE LA CLARIFICATION PAR LES ENZYMES PECTOLYTIQUES

Quelles que soient les actions secondaires pouvant intervenir, et notamment l'hydrolyse de polyholosides plus ou moins associés aux pectines, il est indiscutable que le phénomène essentiel en cause dans la clarification enzymatique des moûts et du vin par les diastases pectolytiques, demeure l'activité pectolytique elle-même.

Comment cette dernière assure-t-elle la clarification ? C'est là en fait le problème essentiel. D'un côté, nous avons vu à peu près où nous en sommes dans la connaissance spécifique de telle ou telle enzyme, purifiée au maximum, agissant sur un substrat pectique lui-même aussi pur et aussi bien défini que possible.

D'autre part, nous avons évoqué les conséquences pratiques, purement technologiques, de l'action conjuguée des enzymes naturelles du raisin et des diastases commerciales utilisées en complément avec une efficacité indiscutable.

Entre ces deux sommes de connaissances, il y a un domaine assez peu exploré, celui qui devrait nous permettre d'exploiter nos connaissances fondamentales pour expliquer et par suite pour diriger plus efficacement les effets technologiques. C'est un problème difficile en raison du nombre important des facteurs mis en cause qui, s'ajoutant, se combinant les uns aux autres, rendent malaisée toute vue synthétique.

Très schématiquement, deux problèmes sont essentiellement posés. Le premier, d'ordre physico-chimique, se résume à ceci : par quel mécanisme la pectolyse assure-t-elle la clarification ? Le second, d'ordre enzymologique, consiste à éclaircir le mécanisme lui-même de la dégradation des pectines du raisin par voie enzymatique.

Concernant le premier problème, nous serons bref ; peut-être d'ailleurs sera-t-il évoqué dans ce symposium par d'autres beaucoup plus compétents que nous ; nous devons dire d'ailleurs n'avoir trouvé que fort peu d'informations à ce sujet dans la littérature.

On peut tout d'abord se demander si l'élimination indiscutable, mais plus ou moins rapide des pectines au cours de la clarification, ne serait pas réalisée par le jeu de la précipitation de l'acide pectique ou de ses sels alcalino-terreux. L'activité de la pectine estérase déméthoxylant la pectine naturelle serait alors seule en cause et le mécanisme de la clarification serait du même type que celui suggéré par exemple par AVERRIL (30) pour le jus de citron. Nous allons voir que l'ensemble des faits expérimentaux tend plutôt à accréditer l'hypothèse selon laquelle la molécule pectique est dégradée postérieurement ou non à sa déméthoxylation par une ou plusieurs des enzymes polygalacturoniques dont nous avons vu la classification au début de cet exposé.

On peut alors admettre que c'est la simple disparition des molécules pectiques en tant que colloïdes protecteurs, qui permet la floculation d'un système colloïdal stable uniquement dans le jus fraîchement extrait.

C'est là l'hypothèse généralement admise qui n'inclut plus forcément, nous le soulignons, la nécessité pour que la clarification soit assurée, d'une dégradation totale de la pectine jusqu'au stade acide galacturonique. Ce rôle de colloïde protecteur de la pectine dans le jus de raisin est nettement démontré et pourrait même entraîner des applications pratiques. MARSHALL par exemple (31) a montré en 1943 que l'addition d'une petite quantité de pectine à la dose de 55 mg par litre, à du jus de pomme, après clarification enzymatique mais avant flash-pasteurisation, pouvait réduire environ six fois la quantité de précipité résultant du chauffage. Il resterait à préciser en détail les paramètres de ce rôle protecteur des pectines, en relation avec la composition du jus ou du vin, le rôle à cet égard notamment de l'alcool éthylique, l'influence de la taille des molécules pectiques, de leur taux de méthoxylation, etc. Il serait donc aussi utile de connaître la composition des sédiments au fur et à mesure du processus de la clarification ; ce dernier point fait l'objet d'études en cours dans notre laboratoire, mais il nous semble prématuré d'en donner les conclusions.

Le problème d'ordre enzymologique posé par la clarification nous retiendra davantage, car nous avons eu l'occasion de nous y intéresser plus particulièrement et nous ne pourrions mieux faire que d'exposer brièvement les quelques conclusions auxquelles nous avons pu aboutir, dans l'état actuel du travail en cours dans le laboratoire de Technologie que dirige le Professeur NÈGRE à l'Ecole nationale supérieure agronomique de Montpellier. Nous allons extraire quelques conclusions essentielles parmi des résultats en instance de publication, que nous avons récemment obtenus en équipe avec nos collègues SCHEUR et OLIVIERI. C'est donc aussi au nom de ces derniers que nous présenterons la suite de ce rapport.

Le mécanisme d'action des enzymes du raisin. — La présence d'enzymes pectolytiques dans ce dernier et leur participation à la clarification du jus de raisin et du vin nouveau est admise ou tout au moins envisagée depuis longtemps. Dès 1934, MEHLITZ et SCHEUER (32) montraient que la clarification était subordonnée à l'hydrolyse enzymatique des pectines et à la diminution de viscosité qui en résulte.

Par ailleurs, la présence d'une pectine estérase assurant la déméthoxylation de la pectine ne pouvait qu'être implicitement admise en fonction par exemple des observations de FLANZY, Mlle LOISEL et Mme BOUZIGUES, mettant en évidence la libération très rapide du méthanol dans le jus dès son extraction (33, 34).

Avec SCHEUR et OLIVIERI (35), nous avons plus récemment essayé de préciser le mécanisme en cause et proposé une méthode de mesure de l'activité P.E. du raisin, dérivée de celle utilisée par JACQUIN dans le cas du cidre (36). En particulier, il nous a paru intéressant de noter que la libération du méthanol par la P.E. du raisin n'est pas affectée par la présence d'alcool à la concentration normale de celui-ci dans le vin.

Nous avons également observé que si l'addition d'une préparation enzymatique commerciale accélérait le processus de libération du méthanol, le taux limite de cet alcool auquel on aboutissait de la sorte, ne différait pratiquement pas de celui observé pour le témoin non traité. Nous en avons alors déduit que ce taux limite ne dépendait guère que du stock de pectine ou d'acides pectiniques solubilisés dans le moût lors de son extraction. Constatant qu'au contraire la macération des matières solides au contact du jus augmente ce taux limite de méthanol, surtout en présence d'enzymes pectolytiques commerciales, nous en avons déduit que la macération dans ces conditions augmente la quantité de pectine dissoute ; on peut donc logiquement penser qu'une activité protopectinasique contribue à faciliter l'extraction du jus constatée grâce au traitement.

En ce qui concerne la clarification, lors de nos premières expériences en 1960, nous avions toujours observé une clarification très rapide des jus accompagnée d'une libération également rapide du méthanol, dont la dose atteignait un palier en moins de 48 h ; mais ces expériences n'avaient porté que sur un nombre assez restreint d'échantillons et cela en fin de période de maturation.

En 1961 et 1962, nos expériences ont été poursuivies pendant toute la période de maturation du raisin, ce qui a présenté l'immense avantage de pouvoir observer des cas beaucoup plus divers. Voici très schématiquement l'essentiel de ces observations résumées dans le Tableau 1.

TABLEAU 1

Echantillons	Délai de clarification	Méthanol libéré dans le jus en 24 h (mg/l)	Activité P.E. du jus *	% de perte de viscosité relative du jus par minute	Activité endo P.G. + P.M.G. du jus**
29/8 — Carignan	+ de 15 j	1,33	0,020	0,005	Traces
31/8 — »	10 j	2,0		0,012	
10/9 — »	+ de 7 j	2,25	0,015	0,0062	0,045
4/9 — »	6 j	2,6	0,105	0,016	0,11
25/9 — »	3 j	4,5	0,035	0,080	0,087
1/10 — »	3 j	5,0	0,030	0,046	
12/9 — »	1 j	15,3	0,018	0,050	0,27
14/9 — »	— de 24 h	25,0		0,14	0,43
6/10 — »	— de 24 h	25,0	0,020		0,38
19/9 — Aramon	3 h	28,5	0,037	0,18	0,54
26/9 — Muscat	+ de 7 j	8,5	0,019	0,060	

* Exprimée en mg de méthanol libéré à 40° par ml de jus et par heure à partir d'une solution de pectine à 0,5 % tamponnée à pH 5.

** Exprimée par l'abaissement relatif de viscosité provoqué à 30° par ml de jus et par minute, à partir d'une solution de pectine à 0,5 % tamponnée à pH 4.

1 — Si dans certains cas, notamment lorsque la maturité est bien atteinte, la clarification spontanée est rapidement obtenue, souvent en moins de 24 h, dans cer-

tains cas au contraire, il faut attendre bien plus longtemps jusqu'à 8 jours, 15 jours ou davantage, pour la voir se réaliser dans les jus stabilisés.

2 — Il y a une corrélation très nette entre la vitesse de libération du méthanol dans le jus et la vitesse de la clarification, cette dernière intervenant d'autant plus vite que le méthanol est plus rapidement libéré.

3 — Il n'y a pas de corrélation directe entre la vitesse de libération du méthanol dans le jus et l'activité P.E. de ce dernier mesurée sur un substrat de pectine tamponné à pH 5 et à 40 °C.

Cette dernière constatation nous avait paru assez décevante ; elle nous a amené à envisager un certain nombre d'hypothèses, notamment la présence dans le moût d'inhibiteurs de la P.E., du type de ceux probablement de nature tannoïde, que l'on a récemment décelés dans la feuille de vigne (37). Aucune des hypothèses envisagées n'a paru vraiment déterminante jusqu'à nos dernières expériences de 1962 au cours desquelles nos déterminations faites sur chaque échantillon ont été complétées en cours de clarification par la mesure de l'abaissement de viscosité du jus et par la mesure de son activité du type endo P.G. déterminée à 30 °C, en suivant l'abaissement de viscosité relative d'une solution de pectine à 0,5 % tamponnée à pH 4.

Comme le montrent succinctement les résultats du Tableau 1, les conclusions suivantes peuvent alors s'ajouter aux précédentes.

4 — Il y a une nette corrélation entre la vitesse de clarification spontanée du moût et l'abaissement de sa viscosité ; si cette proportionnalité marque cependant une certaine irrégularité, il est indéniable que les moûts à clarification lente diminuent très lentement de viscosité, tandis que les moûts à clarification rapide subissent une diminution accélérée de cette dernière.

5 — L'abaissement de viscosité du moût est lui-même en étroite corrélation avec l'activité du type endo-P.G. de celui-ci, mesurée à 30 °C sur un substrat de pectine à pH 4.

6 — Il résulte de tout cela un point paraissant paradoxal à première vue : la libération du méthanol dans le jus est une image, non pas de l'activité P.E. de celui-ci, mais de son activité endo-P.G. En d'autres termes, la manifestation de l'activité P.E. du raisin est subordonnée à la diminution de viscosité résultant elle-même de son activité endo-P.G. ou endo-P.M.G. Cette action doit-elle se manifester antérieurement, simultanément ou postérieurement à la déméthoxylation de la pectine ? Nous ne pouvons entrer dans le détail des hypothèses que nous avons envisagées pour n'exprimer ici que la plus vraisemblable.

Elle résulte des observations faites en 1945 par Lineweaver et Ballou (38) et de l'hypothèse formulée par ces auteurs selon laquelle, lors de la dégradation de la pectine, l'acide pectique libre formé inhiberait l'action ultérieure de la pectine-estérase, par formation avec cette dernière d'un complexe inactif ; cette action inhibitrice ne se manifesterait donc pas aux pH élevés et pourrait être diminuée aux bas pH par une élévation suffisante de la concentration en cations, telle qu'elle existe dans le substrat pectique tamponné utilisé pour les mesures d'activité.

Nous pouvons donc facilement imaginer que le mécanisme inhibiteur se manifeste particulièrement aux pH très bas du jus de raisin et du vin et qu'il n'est supprimé que dans la mesure où l'acide pectique est, au fur et à mesure de sa formation, rapidement dégradé par l'endopolygalacturonase du raisin. Cette action réciproque, synergique, de la polygalacturonase et de la pectine-estérase, a d'ailleurs été démontrée dès 1945 sur un substrat artificiel par Jansen, MacDonnel et Jang (39).

Mécanisme d'action des préparations commerciales. — Nous avons expérimenté en 1962, sept préparations commerciales de diverses origines que nous désignerons par les lettres A à G ; les préparations F et G nous ayant été adressées trop tardivement, n'ont pu être soumises à des essais d'ordre technologique. Le bilan des activités de chacune de ces préparations a été établi vis-à-vis de deux types de substrats : tout d'abord une solution de pectine de pomme dont la proportion de groupements carboxyles estérifiés était de 66,7 %, soit du même ordre de grandeur que celle observée pour la pectine naturelle du raisin, au moment où le jus est extrait. Nous avons aussi utilisé comme substrat, une solution d'acide pectique à la même concentration.

TABLEAU 2

	Abaissement de viscosité relative provoquée à 30 °C par mg de préparation et par minute		Fonctions réductrices libérées à 30 °C méq par mg de préparation et par heure		Fonctions « ester » hydrolysées à 30 °C méq par mg de préparation et par heure	Fonctions « ester » hydrolysées à 40 °C méq par mg de préparation et par heure
Substrat	Ac. pectique à pH 4,0	Pectine à pH 4,0	Ac. pectique à pH 4,0	Pectine à pH 4,0	Pectine à pH 4,0	Pectine à pH 5,0
Produit A	3,9	3,5	$2,4 \times 10^{-3}$	$0,28 \times 10^{-3}$	$0,14 \times 10^{-3}$	$0,12 \times 10^{-3}$
» B	2,43	1,21	$2,03 \times 10^{-3}$	$0,28 \times 10^{-3}$	$0,30 \times 10^{-3}$	$0,50 \times 10^{-3}$
» C	6,75	6,07	$2,76 \times 10^{-3}$	$0,70 \times 10^{-3}$	$1,31 \times 10^{-3}$	$1,77 \times 10^{-3}$
» D	7,29	2,70	$2,03 \times 10^{-3}$	$0,34 \times 10^{-3}$	$0,35 \times 10^{-3}$	$0,53 \times 10^{-3}$
» E	8,1	2,70	$1,79 \times 10^{-3}$	$0,22 \times 10^{-3}$	$0,20 \times 10^{-3}$	$0,34 \times 10^{-3}$
» F	4,05	3,6	$2,0 \times 10^{-3}$	$0,17 \times 10^{-3}$	$0,10 \times 10^{-3}$	$0,13 \times 10^{-3}$
» G	40,5	40,5	$45,5 \times 10^{-3}$	$2,25 \times 10^{-3}$	$2,1 \times 10^{-3}$	$2,53 \times 10^{-3}$

Les résultats du tableau 2 souffriraient de nombreux commentaires qu'il n'est pas possible de développer ici, mais nous noterons plus particulièrement les points suivants :

1 — L'abaissement de viscosité relative, qui traduit l'ensemble des activités endo-P.G. et endo-P.M.G., intervient parfois notablement moins vite sur la pectine que sur l'acide pectique, mais parfois aussi à la même vitesse ; nous serons cependant réservé dans l'interprétation des résultats, en ce qui concerne la comparaison à cet égard des deux substrats, la masse moléculaire moyenne de la pectine ayant été, dans nos expériences, notablement plus importante que celle de l'acide pectique obtenu par déméthoxylation alcaline de cette dernière.

2 — Des différences beaucoup plus nettes sont observées entre les deux types de substrat, en ce qui concerne la vitesse de libération des groupements réducteurs qui intervient beaucoup plus lentement sur la pectine que sur l'acide pectique.

3 — Il nous a paru tout particulièrement intéressant de comparer simultanément, pour chaque préparation, sur la pectine tamponnée à pH 4, d'une part la vitesse d'attaque de la liaison glucosidique (colonne 4), d'autre part la vitesse d'attaque de la liaison ester par la P.E. (colonne 5).

Nous avons eu alors la surprise de constater que dans le cas des produits B, D, E, G, ces deux vitesses étaient identiques ou tout au moins du même ordre de

grandeur. Il nous a paru assez vraisemblable d'admettre que dans ces cas, l'hydrolyse de la liaison glucosidique puisse être subordonnée à la déméthoxylation préalable de la pectine et qu'elle soit freinée par une insuffisance de pectine estérase dont la dose constituait donc un facteur limite ; c'est l'activité P.E. qui réglerait alors la vitesse de dégradation de la molécule.

Ces faits trouvent-ils une résonance technologique ?

Des tentatives ont déjà été faites pour essayer de relier à leurs activités sur milieux synthétiques, les résultats technologiques que l'on peut attendre des préparations commerciales, notamment en vue de la clarification. BERG (17) en particulier, n'a décelé aucune corrélation entre l'efficacité de trois préparations étudiées et leur activité P.E. ou P.G. Avant lui, JOSLYN et ses collaborateurs (40) avaient abouti à des conclusions identiques concernant le jus de pomme. Cependant SCHUBERT (41), dans des publications que nous n'avons malheureusement pas pu analyser directement, a montré que la teneur en P.E. des préparations avait constitué en 1950 le facteur limite de leur efficacité en vue de la clarification du jus de pomme ; ces résultats n'auraient pas été confirmés en 1951.

En fait, le problème n'est pas simple à résoudre et nous pensons qu'il ne peut l'être sans tenir compte du propre système enzymatique du fruit, du raisin en l'occurence.

Un simple tableau va peut-être nous permettre de voir un peu plus clair. Très arbitrairement, appelons R le rapport entre les deux groupes d'activités susceptibles de jouer un rôle déterminant dans la clarification :

$$R = \frac{\text{Activité (endo-P.G. + endo-P.M.G.)}}{\text{Activité P. E.}}$$

Nous évaluons le numérateur de cette expression par la mesure de l'abaissement de viscosité relative d'une solution de pectine à 30 °C et à pH 4, et le dénominateur par la quantité de méthanol libéré à pH 5 et à 40 °C. Ces valeurs ont été mesurées par des méthodes identiques, exprimées par les mêmes unités, d'une part dans une série de jus de raisin et d'autre part pour chacune des préparations commerciales expérimentées.

TABLEAU 3

Echantillons du	Valeurs du rapport R*		Produits
	Jus de raisin	Préparations commerciales	
29/8	# 0	921	A
		75,6	B
4/9	1,05	103	C
10/9	3,0	158	D
12/9	15,0	245	E
19/9	14,5	857	F
25/9	1,65	500	G

* $R = \frac{\text{Activité endo (P.G. + P.M.G.)}}{\text{Activité P.E.}}$ par ml de jus ou par mg de produit.

Il est manifeste que les valeurs de R sont toujours nettement plus élevées dans le cas des préparations commerciales que dans celui du raisin. Très schématiquement,

on peut donc penser que si le raisin manque de quelque chose, c'est plutôt de polygalacturonase, et qu'au contraire dans les préparations commerciales, ce serait plutôt l'absence de pectine estérase qu'il faudrait mettre en cause.

Nous avons effectivement constaté que dans le cas du jus de raisin livré à lui-même, la vitesse de clarification était réglée par son activité polygalacturonique qui constituait le facteur limite et nous venons de voir que dans le cas de certaines préparations commerciales, c'est au contraire la faiblesse de l'activité P.E. qui semble limiter la manifestation complète de l'activité P.G.

Que se passe-t-il lorsque les enzymes du raisin et les enzymes fongiques conjuguent leurs effets ?

Tout ce que nous avons vu laisse prévoir que l'apport massif d'endopolygalacturonase fongique va éliminer le mécanisme inhibiteur de la pectine estérase du raisin. L'effet total de cette dernière pourra alors s'ajouter à celui de la pectine estérase fongique. Cet apport de la pectine estérase du raisin n'est pas négligeable, nous tenons à le souligner ; il est du même ordre de grandeur que celui des préparations commerciales aux doses où on les utilise habituellement.

La vitesse de clarification sera-t-elle alors proportionnelle à la somme des activités P.E. de la préparation d'une part et du raisin d'autre part ?

C'est une hypothèse que l'on peut sérieusement envisager et qui doit être valable dans de nombreux cas, notamment lorsque les préparations ne manifestant pas nettement une activité endopolyméthylgalacturonique, la dégradation de la pectine est subordonnée à sa déméthoxylation préalable. Si cependant la somme des activités P.E. du raisin et de la préparation dépassent la somme des activités endopolygalacturoniques, alors il est possible d'admettre que ces dernières activités puissent régler la vitesse de la clarification. Arrivés à ce stade de raisonnement, il est maintenant logique de se référer à l'expérience technologique directe.

Nous ne pouvons évidemment exposer en détail le résultat des contrôles technologiques effectués pour chacun des cinq produits expérimentés (A à E), utilisés à la même dose sur des lots identiques de vendange foulée ; ces résultats détaillés se trouveront dans la publication en instance déjà mentionnée. Le Tableau 4 résume simplement le classement des produits, du plus efficace au moins efficace, en regard de l'activité des préparations, déterminée sur milieu synthétique, de la plus active à la moins active.

TABLEAU 4

Classement des produits du plus actif au moins actif

	Activité endo-P.G. (*)	Activité P.E. (**)	Vitesse d'abaissement de viscosité relative du jus traité	Vitesse de filtration du jus après 5 heures	Vitesse de libération du méthanol dans le jus traité
1	E	C	C	C	C
2	D	D	D	B	B
3	C	B	B	D	D
4	A	E	E	E	A
5	B	A	A	A	E

* % d'abaissement de viscosité relative par minute et par mg de produit, d'une solution d'acide pectique à 0,5 % (pH 4,0 - 30°).

** méq de fonctions ester hydrolysés par heure et par mg de produit à partir d'une solution de pectine à 0,5 % (pH 5,0 - 40°).

Les résultats du tableau montrent clairement que dans le cas du seul essai où nous ayons pu confronter l'activité technologique des produits et leur contenu enzymatique, c'est bien l'activité pectine estérase des préparations, celle qui leur fait le plus défaut, qui a conditionné l'efficacité.

Nous nous gardons bien cependant de tirer pour l'instant des conclusions trop absolues ; en particulier, il faudra renouveler les expériences avec des jus variés du point de vue de leur propre stock enzymatique.

Références bibliographiques

(1) Demain et Phaff. *Wallerstein Lab. Comm.*, 1957, **20**, 119. (2) Patel et Phaff. *Food Res.*, 1958, **23**, 693. (3) Patel et Phaff. *J. Biol. Chem.*, 1959, **234**, 237. (4) Patel et Phaff. *Food Res.*, 1960, **24**, 47. (6) Albersheim, Neukom et Deuel. *Helv. Chim. Acta*, 1960, **43**, n° 5. (7) Tuttobello et Mills. *Biochem. J.*, 1961, **79**, 51. (8) Mills et Tuttobello. *Biochem. J.*, 1961, **79**, 57. (9) Z.I. Kertesz. « The enzyms », Vol. I, Part. 2, 1951, p. 751. (10) Kaji. *Bull. Agr. Chem. Soc. Japon*, 1959, **23**, 131.

(11) W.V. Cruess, R. O'Neal, G. Chong, D. Uchimoto. *Am. Soc. Enol. Proceedings*, 1951, **59**, 75. (12) G. Reed. *Am. J. Enology*, 1955, **2**, 17. (13) G. Marteau, J. Scheur, C. Olivieri. *Ann. Ecole Nle Agr. Montpellier*, Tome XXX, Fasc. IV. (14) G. Manzoni et C. Miconi. *Riv. Vitic. Enol.*, 1953, n° 9. 268. (15) H.Y. Yang, G.E. Thomas et E.H. Wiegand. *Wines and Vines*, 1950, **31**, 77. (16) A.A. Martakov et R.K. Moldavaev. *Vinod. Vinogr.*, 1962, n° 2. (17) H.W. Berg. *Am. J. Enol. Vit.* 1959 (3), 130-(18) W. Heinmann, K. Wucherpfennig, H.J. Reintjes et J. Stucker. *Weinb. und Keller*, juin 1961. (19) P. Geoffroy et J. Perin. *Vigneron Champenois*, 1961, **82**, 127. (20) Cl. Tarantola. *Riv. Vitic. enol.*,1957).

(21) H. Konlechner et H. Haushofer. *Mitteil.*, 1961, **11**. (22) E. Nègre. *Progr. Agr. Vit.*, 1936. **106**, 567. (23) Z.I. Kertesz. *The pectic substances*, Interscience Pub., 1951, p. 378. (24) G. Reed. *Am, Soc. Enol. Proceedings*, 1951, **54**, 8. (25) A. Endo y Muira. *Agr. biol. chem. Jap.*, 1961, **25**, 382. (26) W.W. Reid. *J. Food Agr.*, 1950, **1**, 234. (27) G. Marteau, J. Scheur et C. Olivieri. Trav. personnels en instance de publication. (28) L. Usseglio-Tomasset. *Ann. Staz. enol. Sper. Asti*, 1956-60, **5**, 855. (29) E. Peynaud. *Ann. Fals. Fraudes*, 1952, **45**, 11. (30) D'après D.E. Pratt et J.J. Powers. *Food Res.*, mars-avril 1953.

(31) D'après D.K. Tressler et M.A. Joslyn. « *Fruit and vegetable juice Processing Technology* », The AVI Publ. Company, 1961. (32) A. Mehlitz et M. Scheuer. *Biochem. Zeits*, 1934, **268**, 345. (33) M. Flanzy et Y. Loisel. *Ann. Techn. agr.*, 1958, **7**, 311. (34) M. Flanzy et L. Bouzigues. *Ann. Techn. agr.*, 1959, **8**, 55. (35) G. Marteau, J. Scheur et C. Olivieri. *Ann. Techn. agr.*, 1961, **10**, 161. (36) P. Jacquin. *Ann. Techn. agr.*, 1954, **4**, 57. (37) Bell et Etchells. *J. Food Sci.*, 1961, **26**, 600. (38) H. Lineweaver et G.A. Ballou. *Arch. Biochem.*, 1945, **3**, 373. (39) E.F. Jansen, L.R. MacDonnel et R. Jang. *Arch. of Biochem.*, 1945, n° 1, 113. (40) M.A. Joslyn, S. Mist et E. Lambert. *Food Technology*, 1952, **6**, 133. (41) E. Schubert. *Schweiz. Brau-Rundschau*, 1951, **62**, 39 et 63, 95.

Résumé

1 — Les progrès des connaissances fondamentales concernant les enzymes pectolytiques ont surtout porté, ces dernières années, sur l'établissement d'une nouvelle classification concernant les enzymes responsables de l'attaque de la liaison glucosidique reliant chacun des maillons de la chaîne polygalacturonique :

— Les endopolygalacturonases agissant sur l'acide pectique ou les endopolyméthylgalacturonases agissant sur les pectines attaquent au hasard la liaison glucosidique et diminuent rapidement la viscosité des solutions.

— Les exopolygalacturonases ou les exopolyméthylgalacturonases attaquent les liaisons glucosidiques terminales, libèrent de l'acide galacturonique, mais agissent peu sur l'abaissement de la viscosité.

2 — L'efficacité des préparations commerciales en vue d'accélérer la clarification du jus de raisin ou du vin est bien connue. On ne peut négliger cependant l'action des diastases naturelles du raisin conduisant plus lentement des transformations souvent identiques, ce qui justifie un emploi très précoce des préparations commerciales.

3 — Les préparations commerciales manifestent souvent des activités diastasiques secondaires : certaines d'entre elles, notamment les oxydases, sont nuisibles ; d'autres au contraire seraient susceptibles de participer au mécanisme de la clarification (hydrolyse des gommes), ce qui pourrait expliquer l'efficacité de certains traitements tardifs réalisés sur le vin.

4 — Le mécanisme de la clarification enzymatique du moût de raisin a été étudié par le rapporteur de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier en collaboration avec Scheur et Olivieri ; il est étroitement lié à la vitesse de libération enzymatique du méthanol à partir des pectines qui intervient d'autant plus vite que la clarification est plus rapide ; il n'y a cependant aucune corrélation entre ce processus et la teneur en pectine estérase du raisin.

Cette anomalie est attribuée à la faiblesse de l'activité endopolygalacturonique du raisin ; c'est donc finalement cette dernière qui réglerait la vitesse de la clarification spontanée et celle de la libération du méthanol.

5 — Dans les préparations commerciales au contraire, si la quantité de pectine méthyl-estérase est, aux doses d'emploi, du même ordre de grandeur que celle du raisin, par contre l'activité endopolygalacturonique est beaucoup plus élevée. Pour plusieurs des préparations étudiées, la vitesse d'attaque glucosidique d'une solution de pectine à pH 4 a été identique à la vitesse de déestérification. La concentration en pectine méthyl-estérase de ces préparations pourrait donc constituer le facteur limite de leur efficacité.

6 — Lors d'essais technologiques de cinq préparations commerciales, ces dernières se sont montrées d'autant plus efficaces qu'elles étaient plus riches en pectine estérase ; d'autres expériences seront nécessaires pour aboutir à des conclusions définitives.

L'apport massif d'endopolygalacturonase par les préparations commerciales pourrait cependant avoir pour effet de faire cesser le mécanisme inhibiteur de la pectine méthyl-estérase du raisin dont l'action pourrait alors s'ajouter à la pectine méthyl-estérase d'origine fongique.

CLARIFYING PROPERTIES OF PECTOLYTIC ENZYMES

G. MARTEAU

Summary

1 — Advances in the basic knowledge of pectolytic enzymes have been mainly concerned, in recent years, with working out a new classification of those enzymes which attack the glucosidic bond binding each one of the units of the polygalacturonic chain together :

— The endopolygalacturonases acting on pectic acid or the endopolymethyl galacturonases affecting pectins attack the glucosidic bonds at random, rapidly reducing the viscosity of the solutions.

— The exopolygalacturonases or the exopolymethyl galacturonases attack the terminal glucosidic bonds, setting free galacturonic acid, but they slighty diminish the viscosity.

2 — The efficiency of current commercial mixtures used with a view to stepping up the clari-

fication of grape juice or wine is well known. However, the action of the natural diastases in the grapes conducting processes which are often similar in a slower way cannot be ignored and this justifies a very early use of current commercial mixtures.

3 — Commercial mixtures frequently produce secondary diastasic reactions : some, including oxydases, are harmful, some are on the contrary claimed to take part in the clarification process (gum hydrolysis) which could accont for the efficiency of som late treatments on wine.

4 — The process of enzymatic clarification of must has been examined by the author of the « Ecole Nationale Supérieure Agronomique » of Montpellier in cooperation with SCHEUR and OLIVIERI. Enzymatic clarification is closely linked with the speed of enzymatic liberation of methanol from pectins, appearing the more quickly as clarification itself is faster. Yet there is no correlation between process and the pectin esterase content of the grapes.

This anomaly is explained by the weak endopolygalacturonic activity of grapes; so it is finally the latter which would appear to regulate the speed of spontaneous clarification and that of the liberation of methanol.

5 — On the other hand, in current commercial mixtures, although the amount of pectin methylesterase is, according to normal dosing, roughly equivalent to that of the grapes, the endopolygalacturonic activity is much higher. With regard to several mixtures being examined, the attacking speed of the glucosidic bond of a pectin solution with pH 4 has been similar to the deesterification speed. The pectin methyl esterase concentration of these mixtures could therefore well constitute the limiting factor of their efficiency.

6 — During technological tests on five commercial mixtures, these have proved all the more efficient because they were richer in pectin esterase ; more experiments will be necessary to reach final and successful conclusions.

The huge contribution of endopolygalacturonase by commercial mixtures could however result in stopping the inhibiting process of pectin methyl esterase in the grapes, the action of which could then complement pectin methyl esterase of fungic origin.

DIE KLÄRENDEN EIGENSCHAFTEN DER PEKTOLYTISCHEN ENZYME

G. MARTEAU

ZUSAMMENFASSUNG

1 — Die Fortschritte in der Kenntnis der pektolytischen Enzyme haben in den letzten Jahren zur Aufstellung einer neuen Klassifizierung jener Fermente beigetragen, welche die glukosidischen Bindungen der Polygalakturonsäure angreifen können.

Die Endopolygalakturonasen, die auf die Pektinsäure, oder die Endopolymethyl-galakturonasen, die auf die Pektine wirken, greifen wahllos die glukosidischen Bindungen an und verringern rasch die Viskosität der Lösungen.

Die Exopolygalakturonasen oder die Exopolymethyl-galakturonasen greifen nur die endständigen glukosidischen Bindungen an, spalten Galakturonsäure ab und wirken nur wenig auf die Verminderung der Viskosität.

2 — Die Wirksamkeit der handelsüblichen Produkte zur Beschleunigung der Klärung des Traubensaftes ist zur Genüge bekannt. Man darf aber die Wirkung der natürlichen Fermente der Trauben nicht vernachlässigen, welche viel langsamer zu ähnlichen Umwandlungen führen, was eine gesteigerte Anwendung der Handelspräparate rechtfertigt.

3 — Die Handelspräparate haben oft sekundäre fermentative Wirkungen. Manche von ihnen enthalten schädliche Oxydasen, andere können infolge Hydrolyse der Gummi am Klärungsmechanismus beteiligt sein.

4 — Der Mechanismus der enzymatischen Klärung des Traubenmostes wurde vom Berichterstatter in Zusammenarbeit mit SCHEUR und OLIVIERI an der Höheren Landwirtschaftsschule in Montpellier studiert. Es besteht ein direkter Zusammenhang zwischen der Geschwindigkeit der Methanolabspaltung aus den Pektinen und der Geschwindigkeit der Klärung. Es besteht aber kein Zusammenhang zwischen diesem Prozess und dem Gehalt der Trauben an verestertem Pektin. Diese Abweichung ist durch die schwache Aktivität der Endopolygalakturonase der Trauben bedingt. Diese regelt letzten Endes die Geschwindigkeit der Selbstklärung und der Methanolabspaltung.

5 — Wenn im Gegensatz dazu in der angewandten Menge eines Handelspräparates die Menge der Pektin-methyl-esterase von der gleichen Grössenordnung wie in der Traube ist, so ist die Aktivität der Endopolygalakturonase bedeutend höher. Für viele untersuchte Präparate ist die Ge-

schwindigkeit des Angriffes auf die glukosidischen Bindungen einer Pektinlösung bei pH 4 gleich der Geschwindigkeit der Esterspaltung. Die Konzentration an Pektin-methyl-esterase könnte in diesen Präparaten den Begrenzungsfaktor ihrer Wirksamkeit darstellen.

6 — Auf Grund technologischer Versuche mit 5 Handelspräparaten, waren diese umso wirksamer, je mehr Pektin-methyl-esterase sie enthielten. Weitere Versuche zur Erhärtung dieses Ergebnisses sind noch erforderlich.

Der massive Einsatz an Endopolygalakturonase durch die Handelspräparate könnte den Verzögerungseffekt der Pektin-methyl-esterase der Traube ausschalten.

Die Wirkung könnte sich dann zur Pektin-methyl-esterase piltlicher Herkunft addieren.

PROPRIETÁ CHIARIFICANTI DEGLI ENZIMI PECTOLITICI

G. MARTEAU

RIASSUNTO

1 — I progressi delle conoscenze fondamentali concernenti gli enzimi pectolitici hanno soprattutto interessato, in questi ultimi anni, l'istituzione di una nuova classificazione concernente gli enzimi responsabili dell'attacco del legame glucosidico que lega ciascuno degli anelli della catena poligalatturonica :

Le endopo ligalatturonasi agenti sull'acido pectico o le endopolimetil galatturonasi agenti sulle pectine attaccano a caso i legami glucosidici e diminuiscono rapidamente la viscositá delle soluzioni.

Le esopo ligalatturonasi o le esopolimetil galatturonasi attaccano i legami glucosidici terminali, liberano l'acido galatturonico, ma agiscono poco sulle diminuzione della viscositá.

2 — L'efficacia dei prodotti commerciali allo scopo di accelerare la chiarificazione del succo d'uve o del vino è ben nota. Non si puó tuttavia disconoscere l'azione delle diastasi naturali del vino que determinani più lentamente delle trasformazioni spesso identiche, il che giustifica un impiego precocissimo dei prodotti commerciali.

3 — I prodotti commerciali manifestano spesso delle attività diastasiche secondarie : alcune d'esse, notamente le ossidasi, sono nocive, altre al contrario sarebbero suscettibili di participare al meccanismo della chiarificazione (idrolisi delle gomme) la qual cosa potrebbe spiegare l'efficacia di alcuni trattamenti tardivi realizzati sul vino.

4 — Il meccanismo della chiarificazione enzimatica del mosto d'uva è stato studiato dal relatore della Scuola Nazionale Superiore Agronomica di Montpellier in collaborazione con SCHEUR e OLIVIERI ; esso è strettamente legato alla velocità di liberazione enzimatica dell'alcole metilico a partire dalle pectine che si realizza tanto più velocemente quanto più rapida la chiarificazione ; non c'è tuttavia alcuna relazione tra questo processo ed il tenore in pectinesterasi dell'uva.

Questa anomalia è attribuita alla debole attività endopoligalatturonasica dell'uva ; in conclusione sarebbe dunque questa ultima attività a regolare la velocità della chiarificazione spontanea e quella della liberazione dell'alcole metilico.

5 — Nei prodotti commerciali al contrario, se alle dosi d'impiego la quantità di pectin-metilesterasi non differisce molto dall'ordine di grandezza abitualmente riscontrabile nell'uva, per contro l'attività endopoligalatturonasica è di gran lunga più elevata. Per molti dei prodotti studiati, la velocità d'attacco del legame glucosidico di una soluzione di pectina, a pH 4, è stata identica alla velocità di disesterificazione. La concentrazione in pectin-metilesterasi di questi prodotti potrebbe dunque costituire il fattore limite della loro efficacità.

6 — Al momento dei saggi tecnologici di cinque prodotti commerciali, questi ultimi si sono mostrati tanto più efficaci quanto più essi erano ricchi in pectinesterasi ; altre esperienze saranno necessarie per arrivare a conclusioni definitive.

L'apporto massivo di endopoligalatturonasi per mezzo di prodotti commerciali potrebbe tuttavia avere l'effetto di fare cessare il meccanismo inibitore della pectin-metilesterasi dell'uva, la cui azione potrebbe allora aggiungersi alla pectin-metilesterasi prodotta dai funghi.

PROPIEDADES CLARIFICANTES DE LAS ENZIMAS PECTOLITICAS

G. MARTEAU

Resumen

1 — Los progresos en el conocimiento fundamental de los enzimas pectolíticas, han tratado en estos últimos años, principalmente sobre el establecimiento de una nueva clasificación concerniente a los enzimas responsables del ataque de la unión glucosídica que enlaza cada uno de los eslabones de la cadena poligalacturónica :

Las endopoligalacturonasas, actuando sobre el ácido péctico, o las endopolimetilgalacturonasas sobre las pectinas, atacan al azar la unión glucosídica y disminuyen rápidamente la viscosidad de las soluciones.

Las exopoligalacturonosas o las exopolimetilgalacturonasas atacan las uniones glucosídicas terminales, liberan ácido galacturónico, pero actúan poco sobre el descenso de la viscosidad.

2 — La eficacia de las preparaciones comerciales tendientes a acelerar la clarificacion del jugo de uva o del vino, es bien conocida.

No se puede menospreciar sin embargo la acción de las diastasas naturales de la uva, que llevan más lentamente a transformaciones frecuentemente idénticas, lo que justifica un uso muy precoz de las preparaciones comerciales.

3 — Las preparaciones comerciales manifiestan con frecuencia actividades diastásicas secundarias : algunas de ellas, en particular las oxidasas, son nocivas ; otros por el contrario, serían susceptibles de participar en el mecanismo de la clarificación (hidrólisis de las gomas), lo que podria explicar la eficacia de ciertos tratamientos tardios realizados en el vino.

4 — El mecanismo de la clarificación enzimatica del mosto de uva ha sido estudiado por el ponente de la Escuela Nacional Superior Agronomica de Montpellier, en colaboración con Scheur y Olivieri ; está estrechamente ligado a la velocidad de liberación enzimática del metanol a partir de las pectinas, que interviene tanto más rápidamente cuando más rápida es la clarificación ; sin embargo no hay ninguna correlación entre este proceso y el contenido en pectina esterasa de la uva.

Esta anomalía es atribuída a lo débil de la actividad endopoligalacturónica de la uva ; entonces, en última instancia es ésta última la que regularía la velocidad de la clarificación espontánea y de la liberación del metanol.

5 — Por el contrario, en las préparaciones comerciales, si la cantidad de pectina metil-esterasa es, en las dosis de uso, del mismo órden que la de la uva, por el contrario, la actividad endopoligalacturónica es mucho más elavada. En varias de las preparaciones estudiadas, la velocidad de ataque de la unión glucosídica de una solución de pectina a pH = 4 ha sido idéntica a la velocidad de desesterificación. La concentración en pectina metil-esterasa de estas preparaciones podria entonces constituir el factor límite de su eficacia.

6 — En pruebas tecnológicas de cinco preparaciones comerciales, éstas ultimas se han mostrado tanto más eficaces cuanto más ricas eran en pectina esterasa ; serán necesarias otros experiencias para llegar a conclusiones definitivas.

El aporte masivo de endopoligalacturonasa con las préparaciones comerciales, podria sin embargo tener por efecto el detener el mecanismo inhibidor de la pectna metil-esterasa de la uva, cuya acción podria entonces agregarse a la pectina metil-esterasa de origen fúngico.

DISCUSSION

M. Usseglio-Tomasset (Asti, Italie) : Nous avons rencontré, après fixation sur résines échangeuses d'ions, par voie spectrophotométrique, de l'acide galacturonique (plus de 100 mg par litre). M. Blouin en a trouvé de même dans les vins de Bordeaux. C'est une confirmation directe de la présence de la polygalacturonase dans les moûts naturels.

Réponse : Il serait également utile de rechercher l'accumulation des acides di- et trigalacturoniques qui constituent, comme nous l'avons déjà dit, le terme normal de l'activité du type endopolygalacturonique.

M. Léglise (Beaune) : Pourquoi observe-t-on la floculation spontanée des pectines dans les vins rouges et jamais dans les vins blancs ?

M. Rentschler (Wädenswil, Suisse) explique cette différence de comportement par la teneur élevée en tanin des vins rouges permettant la floculation des enzymes pectolytiques et non dans les vins blancs.

M. Garoglio (Florence, Italie) signale les expériences de vinification faites en Italie depuis cinq années avec les préparations enzymatiques commerciales. Les résultats confirment que la présence de méthanol est plus importante dans les vins blancs que dans les vins rouges. D'autre part l'emploi d'acide sulfureux en vinification évite l'action de la petite quantité d'oxydase dont M. Marteau a signalé la présence et les inconvénients dans les préparations enzymatiques commerciales.

INTERVENTION DE H. VALAIZE

Laboratoire œnologique et agricole de Béziers (France)

Action des enzymes pectolytiques sur les vins de pressoir continu

Le problème de l'amélioration des caractères organoleptiques et de la clarification des vins de pressoir continu s'est posé avec une acuité accrue, dans les régions de production des vins de consommation courante, dans le midi de la France notamment, en raison des exigences actuelles du commerce et du consommateur.

Le procédé courant qui consiste à envoyer les vins de presse dans les cuves de fermentation est à proscrire si l'on veut obtenir des vins souples. Il est absolument illusoire de s'astreindre à réduire le temps de cuvage et à suivre l'indice de permanganate ou mieux la densité optique en vue d'éviter un excès de composés polyphénoliques, si l'on doit par la suite incorporer au vin de goutte des vins de presse astringents et amers. En matière de vinification en rouge dans les régions de vins de consommation courante tout au moins, le problème des vins souples est avant tout un problème de vins de pressoir.

C'est pourquoi nous avons jugé intéressant de faire des essais, dans deux Caves coopératives en 1961 et en 1962, avec une préparation d'enzymes pectolytiques en poudre en vue d'améliorer les vins de pressoir continu.

Ces essais ont été conduits de la façon suivante : A la sortie du pressoir, le vin a été sulfité à raison de 10 g d'acide sulfureux par hl pour un premier débourbage. Le traitement enzymatique à raison de 100 g par hl du produit commercial a été pratiqué une dizaine de jours après, au cours d'un soutirage, sur du vin encore très trouble et dont la température était voisine de 25 °C.

La dose utile de préparation enzymatique a été préalablement versée dans environ vingt fois son poids de vin, en agitant. Trente minutes plus tard, la dilution était incorporée à la masse, au cours du soutirage.

Dans ces conditions, le vin se trouvait parfaitement limpide, une dizaine de jours après et, à la dégustation, l'amertume et l'astringence étaient nettement atténuées. Un collage à la gélatine pratiqué à l'entrée de l'hiver a permis d'améliorer encore les caractères organoleptiques du vin qui aurait pu finalement être incorporé dans la proportion de 25 % à un vin de goutte, sans dommage pour ce dernier. (Mais le traitement des vins avec les enzymes n'étant pas encore autorisé en France, les quelques hectolitres traités ont été versés dans les lies pour être distillés).

Les résultats obtenus se sont avérés sensiblement identiques dans les deux Caves coopératives en 1961 et 1962. Les différences constatées par les gérants et nous-même entre le vin traité et les vins bruts, toujours troubles et amers, étaient vraiment très grandes. Par contre, les deux ou trois essais effectués en novembre ou en mai sur des vins qui n'atteignaient pas 20 °C de température ont échoué.

En conclusion, nous pensons que l'emploi des enzymes pectolytiques, dans des conditions bien déterminées, est souhaitable pour les vins de presse, à moins que le législateur ne soit décidé d'envoyer ces vins à la chaudière, ce qui du point de vue économique nous paraît bien difficile.

ESSAIS DE TENUE ET DÉPISTAGE DES POSSIBILITÉS DE TROUBLES

L. LÉGLISE

Station Œnologique de Beaune (France)

Le sujet traité constitue une partie d'une publication rédigée voici quelques années (1957), et éditée par l'Institut Technique du Vin.

Le reste de cette publication contient des indications de traitement qui ne sont plus parfaitement à jour et qui nécessiteraient une révision périodique.

Laissant ce détail de côté, ce rapport s'en tient aujourd'hui aux commentaires des principes directeurs de ce travail.

La commercialisation du vin en bouteilles prend actuellement un essor encore jamais atteint par le passé et cette commercialisation s'effectue sous le dogme de la limpidité. L'auteur a eu l'occasion de voir récemment des ordres d'achat passés pour des vins de grande classe dans lesquels il était stipulé que la limpidité des bouteilles était la clause essentielle du contrat. Les mentalités anglo-saxonnes et scandinaves sont particulièrement exigeantes à ce sujet. Sur le fond, on pourrait discuter ce principe de la limpidité et préférer qu'on lui substitue une notion de qualité intrinsèque du vin, mais les faits sont là et c'est avec eux que nous devons compter.

Cette recherche et le maintien de la limpidité imposent donc aux œnologues des servitudes considérables sous toutes les latitudes et sous tous les climats. Pour s'en convaincre, il suffit de faire un bilan sommaire de tous les travaux de recherches et d'expérimentations qui sont publiés sur le traitement des vins et de constater que leur volume commence à l'emporter sérieusement sur l'étude des vinifications qui devrait être pourtant l'essentiel de nos recherches. Car c'est certainement dans l'amélioration et l'adaptation des procédés de vinification que réside la solution de la majorité de nos problèmes.

Quoi qu'il en soit, les impératifs de la limpidité ont eu l'avantage de provoquer des recherches en profondeur sur la constitution et le comportement des vins et d'enrichir la bibliothèque œnologique d'une somme de connaissances qui, actuellement, nécessite plusieurs années d'études pour être possédée convenablement. Par cette somme d'acquisitions, le praticien qui débute risque d'être plus ou moins submergé et de perdre de vue à la fois l'ensemble des problèmes qui lui incombent et une ligne directrice pour les appréhender. Aussi, après peu de temps, s'impose à lui la nécessité d'une méthode d'exploitation rationnelle de ses connaissances à la fois décantée et systématisée.

Et avant d'entrer dans le vif de ce propos, je crois devoir mettre en garde les jeunes œnologues débutants contre les tentations, toujours plus ou moins latentes, d'une œnologie standardisée qui en est encore à la recherche de quelques panacées. Cet empirisme n'est pas la voie qui gardera ou rendra au vin sa qualité et son prestige. A cela, nous préférons opposer une œnologie spécifique et circonstanciée dont voici quels peuvent être les aspects.

Le dépistage des altérations éventuelles de la limpidité nécessite :

1° de répertorier toutes les possibilités de trouble qui ont été identifiées et étudiées par les chercheurs ;

2° de passer en revue pour chaque cas particulier et pour chaque vin les éléments qui peuvent contribuer éventuellement à rendre ces troubles effectifs.

Ce travail constitue donc un diagnostic complet du vin avec des analyses et des tests bien caractérisés. Dans la planification de ce travail, on aura à prévoir des troubles d'origine biologique, et des troubles d'origine chimique. Dans ces derniers, on distinguera, à nouveau, ceux qui sont essentiellement organiques et ceux qui comprennent une part variable d'éléments minéraux.

Troubles biologiques

Les troubles biologiques éventuels comprennent : soit une reprise de fermentation alcoolique de sucres résiduels ; soit une reprise de fermentation malolactique non faite ou inachevée ; soit des détériorations microbiennes, telles que l'acescence ou la tourne.

Le dosage des sucres résiduels, joint au besoin à un dosage de l'alcool, nous renseigne sur les possibilités de refermentation du vin. En fonction de ces deux dosages, le praticien aura à juger s'il doit conseiller la stabilisation du sucre ou une reprise de la fermentation alcoolique.

Les risques de reprise d'une fermentation malolactique en bouteilles sont actuellement fort bien dépistés par la chromatographie des acides fixes. Des résidus d'acide malique ne sont pas nécessairement un cas d'opposition à la mise en bouteilles, si ces résidus sont faibles ou si le vin, par sa constitution, appelle une teneur relativement forte en anhydride sulfureux. Par contre, pour les vins rouges qui sont destinés à une conservation prolongée en bouteilles, les résidus d'acide malique constituent à coup sûr un pronostic de refermentation en bouteilles après quelques années.

Quant aux détériorations microbiennes, elles sont prévisibles par la tenue à l'étuve. Celle-ci se réalise en plaçant le vin dans de petits flacons à la température de 25 à 30 °C pendant plusieurs jours au terme desquels on contrôle l'augmentation de leur acidité volatile et on leur fait subir un examen microscopique. Précisons toutefois que la tourne ne peut pas être prévue de cette manière, car cette fermentation est totalement anaérobie et ne se développe pas dans les conditions d'un tel essai.

Troubles chimiques

Pour les troubles chimiques, si l'on distingue d'abord ceux qui sont essentiellement organiques, on les classera par leur origine :

1° par oxydation : casse oxydasique ou secondairement madérisation et brunissement ;

2° par hydrolyse : précipitation des aglycones de la matière colorante, dénommée « casse hydrolasique » par FERRÉ et MICHEL ;

3° par floculation colloïdale : matières protéiques naturelles ou provenant de surcollage, pectines.

La casse oxydasique, qui est une oxydation et une précipitation brutale et totale des polyphénols du vin par une oxydase, se dépiste au moyen d'un test dénommé « tenue à l'air ». Ce test, sur lequel nous aurons à revenir ailleurs, est un des plus utiles qui soient, car il permet de diagnostiquer par avance toutes les altérations ou même les simples modifications qui résultent d'une oxygénation momentanée du vin. Il consiste à placer 50 ml environ de vin limpide, filtré ou centrifugé, dans un verre et à l'y laisser au repos, coiffé d'un papier filtre pendant quelques jours. Cet essai doit être maintenu rigoureusement à l'abri des rayons solaires directs, car la fraction ultra-violet du spectre solaire a la propriété de réduire en quelques minutes le potentiel du vin et de faire disparaître les troubles résultant d'une oxygénation. A défaut d'un accident aussi spectaculaire que la casse oxydasique, la tenue à l'air permet également de dépister la madérisation des vins blancs et le brunissement des vins rouges avec les modifications olfactives qui en résultent.

En ce qui concerne la casse hydrolasique, il n'y a pas de prévision possible, car cet accident est lié à la nature de certains cépages tels que le Gamay du Beaujolais ou la Syrah des Côtes-du-Rhône et à certains millésimes bien particuliers, mais qui ne sont repérables que de longues années plus tard lorsque l'accident s'est produit. Toutefois, il a été constaté, sur les cépages indiqués, que les traitements par le froid entraînent une rupture d'équilibre et une précipitation des matières colorantes qui se continue d'une manière presque indéfinie après le traitement. La réfrigération de tels vins est donc à déconseiller d'une manière systématique.

Les troubles d'origine protéique, qu'ils soient naturels ou qu'ils résultent d'un surcollage des vins blancs par une colle gélatineuse, sont certainement les plus faciles à prévenir. La présence de protéines dans les vins blancs est décelable par leur coagulation et celle-ci peut être obtenue, soit par une addition de tanin, soit par la chaleur sur un volume de vin de l'ordre d'un tube à essai. Il existe également un produit allemand dénommé « bentotest » qui décèle les protéines dans le vin blanc par une réaction colorimétrique.

Si l'on envisage, maintenant, les troubles organiques associés à un élément minéral, on aura à distinguer la casse ferrique, la casse cuivreuse ou cuivrique selon les auteurs, et les précipitations de bitartrate.

La casse ferrique, de même que la casse oxydasique, se dépiste au moyen d'une tenue à l'air. Celle-ci doit s'effectuer sur un vin parfaitement limpide et pendant une durée de quatre jours qui correspond sensiblement au maximum d'oxygénation des ions « fer » du vin. Il est essentiel aussi pour la même raison qu'elle soit tenue avec soin à l'abri d'un rayonnement solaire direct. Dans les vins blancs, elle se traduit par un simple trouble qui demeure en suspension dans le liquide. Dans les vins rouges, par contre, elle donne lieu à un dépôt plus ou moins associé à des polyphénols, qui leur donnent parfois une teinte bleuâtre, d'où le nom de « casse bleue » utilisé par certains auteurs. Ce dépôt apparaît collé au verre lorsqu'on décante le vin avec précaution.

Cependant, pour préciser un diagnostic de casse ferrique, il est bon de ne pas s'en tenir à l'apparence visuelle. Pour le vin blanc qui a troublé, on vérifiera par une addition d'hydrosulfite de sodium que ce trouble est réductible. Pour le vin rouge, on fera, sur le fond du verre, une réaction colorimétrique avec quelques gouttes d'acide chlorhydrique et de thiocyanate de potassium.

D'autre part, le diagnostic de casse ferrique doit être nuancé par l'importance que l'on attribue à l'accident. Celui-ci peut être faible, moyen ou intense. Mais cette appréciation ne devra pas être reliée seulement à la teneur en fer du vin, chiffrée en valeur absolue. On devra se souvenir que, dans la précipitation du phosphate ferrique associé ou non à un support organique, c'est le pH qui est l'élément déterminant.

Pour la casse cuivreuse, qui découle d'un processus réducteur et qui ne se produit qu'après plusieurs mois de séjour en bouteilles, on est aussi démuni de moyens de prévision que pour la casse hydrolasique. Toutefois, selon RIBÉREAU-GAYON, on doit considérer qu'elle est toujours possible lorsque la teneur en cuivre avoisine ou dépasse le milligramme par litre, surtout avec des teneurs importantes en anhydride sulfureux.

Le test le plus certain consisterait à pouvoir mesurer le niveau le plus bas du potentiel d'oxydo-réduction que le vin peut atteindre spontanément, et à le confronter avec le potentiel de formation du sulfure de cuivre (qui est de l'ordre de 180 mV). Une telle mesure devrait être faite en particulier lorsqu'on envisage l'emploi d'acide ascorbique. J'ai eu à constater un accident de casse cuivreuse sur un vin blanc traité par ce produit.

Les deux accidents précédents, casse ferrique et casse cuivreuse, sont également favorisés dans les vins blancs par une teneur élevée en protéine dont le dépistage a été indiqué précédemment. Dans les cas où un trouble est prévisible, sa prévention devra inclure nécessairement l'élimination de ces protéines.

En ce qui concerne les précipitations de bitartrate, on est totalement démuni de moyens de prévision. En effet, la plupart des vins naturels sont saturés en tartre et la rupture de solubilité de celui-ci est fonction du degré alcoolique et de la température simultanément. Mais une exposition au froid en-dessous de zéro ne suffit pas à provoquer cette rupture. Il faudrait qu'elle soit accompagnée d'une agitation concomittante du vin. Ce sont plutôt l'usage, le millésime et le mode de vinification qui donneront une indication sur ce risque.

ORGANISATION DES ESSAIS DE TENUE

Du point de vue pratique, l'exploitation de ce plan d'essais ne nécessite, contre toute apparence, ni supplément de travail, ni surcroît de temps, par rapport à une analyse classique. Elle réside tout simplement dans une organisation chronologique des tests et des déterminations à effectuer.

En premier lieu et dès la réception de l'échantillon, on procède à la mise en place de la tenue à l'air et éventuellement de la tenue à l'étuve. Pendant le délai de quatre jours que la première nécessite, on procède aux déterminations analytiques nécessaires. Pour les vins rouges, on dosera :

— le sucre, par une méthode limite et éventuellement par une méthode exacte s'il en reste ; dans ce dernier cas, on y adjoindra un dosage d'alcool ;

— les acidités totale, fixe et volatile ;

— les anions fixes totaux par chromatographie, en observant particulièrement les spots de l'acide tartrique et de l'acide malique ;

— l'anhydride sulfureux éventuel pour les régions chaudes ou pour les expéditions lointaines.

Pour les vins blancs, on inscrira à l'analyse :

— le sucre, dans les mêmes conditions que pour les rouges ;
— l'acidité totale (facultativement l'acidité volatile qui est toujours minime) ;
— le fer et le cuivre ;
— les matières protéiques par le test indiqué ;
— la chromatographie des acides ;
— l'anhydride sulfureux.

De cette manière, et dans un temps relativement court, l'examen systématique des vins peut être combiné avec les nécessités du travail en série. Toutefois, pour être complet, le dépistage des troubles ne se termine pas là. Lorsqu'on soumet au praticien un échantillon de vin qui souffre déjà d'un trouble effectif, il lui faut non seulement identifier ce trouble, mais encore vérifier dans quelles conditions il est susceptible de se reproduire.

A cet effet, on procède d'abord à une centrifugation du vin pour concentrer sous forme de dépôt les éléments en suspension. Ceux-ci sont ensuite examinés au microscope également sous une forme concentrée.

A première vue, on a alors à distinguer des éléments organisés tels que des bactéries ou des levures dont on détermine ultérieurement le degré d'activité par la fixation de bleu de méthylène, et des éléments inertes constitués par des granulations colloïdales ou par des cristaux.

Sur la fraction inerte, on recherche les éléments métalliques par une microréaction colorimétrique effectuée sur une goutte de dépôt (acide chlorhydrique et thiocyanate pour le fer, ammoniaque et diéthyldithiocarbamate pour le cuivre). En l'absence de réaction métallique, cette fraction inerte peut être constituée sur les vins rouges par de la matière colorante, et sur les vins blancs par des protéines ou des pectines. Ces deux derniers éléments sont alors à rechercher sur le vin lui-même. En fonction des éléments trouvés, on procédera aux mêmes opérations que celles indiquées précédemment : dosage du sucre ou chromatographie des acides, en cas de présence de microorganismes ; tenue à l'air avec dosage de l'acidité et du fer ; dosage du cuivre ; réaction des matières protéiques ; recherche des colloïdes protecteurs par essais de collage, selon l'importance et la nature de la fraction amorphe du dépôt.

En conclusion, l'ensemble de ces opérations effectuées dans l'ordre indiqué doit procurer à l'œnologue une maîtrise assez satisfaisante sur les probabilités de trouble. Son diagnostic global devra lui permettre de traiter en connaissance de cause et à bon escient les vins qui lui sont confiés, avec la préoccupation constante de limiter ses interventions à la mesure qui est strictement nécessaire. La sécurité que lui donne cet examen d'ensemble devra même lui permettre de s'abstenir d'une intervention lorsque celle-ci ne s'impose pas. Ainsi, obtenant le maximum d'effet avec le minimum de moyens, il travaillera à sauvegarder la qualité présente et future et les caractères spécifiques de chaque vin.

Résumé

Le présent rapport commente une publication déjà ancienne de l'auteur intitulée : « Essai méthodique en vue de la conduite et de l'interprétation de l'analyse pour le maintien et le traitement des vins » (publication Institut Technique du Vin, 1957).

Ce travail constitue un plan systématique de tests et de déterminations analytiques. qui permettent de prévoir et d'identifier les troubles possibles des vins, afin de leur appliquer par la suite des traitements spécifiques.

La somme des travaux à effectuer diffère très peu de l'analyse classique, sinon par son organisation chronologique. On adjoint en particulier à l'analyse habituelle les essais de tenue à l'air et à l'étuve, la recherche chromatographique de l'acide malique, le dosage du fer et du cuivre, le test des matières protéiques des vins blancs.

Les différentes causes de troubles éventuels sont passées en revue et classées selon leur origine : biologique, organique ou minérale.

TESTS FOR THE MAINTENANCE OF LIMPIDITY IN WINE AND DETECTION OF THE POSSIBILITY OF TURBIDITY

L. LÉGLISE

Summary

The present report comments on an old publication of the author entitled « Methodical tests with the view of conducting and interpreting the analysis for the preservation and treatment of wines » (« Institut technique du vin » publication 1957).

This work constitutes a systematic plan of tests and analytic determinations which give the possibility to anticipate and identify eventual turbidities in wines, in order to apply later to them specific treatments.

The complete work is not very different from the classic analysis, except by its chronological organisation. With the usual analysis, one particularly associates endurance tests for air-proofness and heat-resistance, chromatographic detection of malic acid, determination of iron and copper contents, test for proteinic substances in white wines.

The different reasons of eventual turbidities are reviewed and classified according to their origin : biological, organic or mineral.

VERSUCHE ZUR HALTBARKEITMACHUNG UND UNTERSUCHUNGEN DER WEINTRÜBUNGEN

L. LÉGLISE

Zusammenfassung

Der vorliegende Bericht behandelt eine frühere Publikation des Autors unter dem Titel « Methodische Versuche hinsichtlich der Durchführung und Auswertung von Weinuntersuchungen zur Erhaltung und Behandlung der Weine », die von « Institut Technique du Vin » im Jahre 1957 herausgegeben wurde.

Dieses Werk bildet eine systematische Zusammenstellung von Testen und analytischen Bestimmungemethoden, um die im Wein möglichen Trübungen vorauszusehen und zu erkennen, und nachfolgend die entsprechenden Behandlungen vornehmen zu können.

Die hierzu erforderlichen Arbeiten sind von der klassischen Untersuchung nur durch ihre chronologische Anordnung verschieden. Man fügt nämlich der gewöhnlichen Analyse das Verhalten gegenüber Luft und erhöhter Temperatur, den chromatographischen Nachweis der Apfelsäure, die Bestimmung des Eisens und Kupfers und den Test für die Eiweissstoffe der Weissweine hinzu.

Die verschiedenen Trübungsursachen werden besprochen und nach ihren Ursachen eingeteilt in biologische, organische und mineralische Trübungen.

SAGGI DI STABILITÀ E POSSIBILITA DI INTORBIDAMENTI

L. LÉGLISE

Riassunto

La presente relazione illustra una publicazione dell'autore risalente a qualche tempo addietro, intitolata « Saggio metodico in vista della condotta e della interpretazione dell'analisi per la conservazione ed il trattamento dei vini » (pubblicazione « Institut technique du vin », 1957).

Questo lavoro costituise un piano sistematico delle prove e delle determinazioni analitiche, che permettono di prevedere e di identificare gli intorbidamenti possibili dei vini, al fine di applicar loro in seguito dei trattamenti specifici.

Il complesso dei lavori da effettuare differisce assai poco dall'analisi classica, se non per la sua organizzazione cronologica. Si aggiungono in particolare all'analisi abituale i saggi di tenuta all'arie ed alle stufa, le ricerche cromatografiche dell'acido malico, il dosaggio del ferro e del rame, il test delle materie proteiche dei vini bianchi.

Le differenti cause degli eventuali intorbidamenti sono passate in rassegna e classificate secondo la lore origine : biologica, organica o minerale.

ENSAYOS DE ESTABILIDAD Y DETERMINACIÓN DE LAS POSIBILIDADES DE ENTURBIAMIENTO

L. LÉGLISE

Resumen

Se comenta en la ponencia presente una publicación bastante antigua del autor titulada : « Enseyo metódico con el fin de conducir e interpretar el analisis para la conservación y el tratamiento de los vinos » Institut Technique du Vin, 1957.

Dicho trabajo constituye un plan sistematico de pruebas y de operaciones analíticas de las que resulta posible prever e identificar las posibilidades de enturbiamientos en los vinos para aplicar despues a éstos, tratamientos específicos.

El conjunto de trabajos necesarios difiere muy poco del análisis clásico ; sólo por la disposicion cronológica. Se agrega en particular al análisis habitual los ensayos de estabilidad al aire y a la estufa, la determinación cromatográfica del ácido málico, la del hierro y del cobre, y el test de las materias proteicas de los vinos blancos.

Las causas diversas de enturbiamientos son enumeradas y clasificadas según su orígen : biológico, orgánico y mineral.

DISCUSSION

M. Binche (Bordeaux) signale l'intérêt pour le dosage colorimétrique du fer dans les vins rouges par le thiocyanate de potassium, de remplacer l'éther sulfurique par un mélange à parties égales de tétrachlorure de carbone et d'alcool isoamylique, dans l'extraction du thiocyanate ferrique coloré.

PRÉVENTION DES TROUBLES ET DÉPÔTS

STABILISATION DES ANTHOCYANNES. COMPORTEMENT DE LA COULEUR DANS LES VINS ROUGES

H.W. BERG

Département de Viticulture et d'Œnologie, Université de Californie, Davis (U.S.A.)

Les résultats d'une étude de plusieurs années sur le comportement de la couleur des vins pendant la fermentation et le vieillissement ont été résumés dans un travail de BERG et AKIYOSHI (1) en 1962. L'étude présente est un développement de cette précédente publication et représente un essai pour expliquer les anomalies qui y avaient été signalées. Par exemple, les questions suivantes se posaient :

Pourquoi la fermentation affecte-t-elle le comportement de la couleur pendant le vieillissement ? Pourquoi, sans modification du pH, y a-t-il un changement apparent de l'équilibre entre les formes de pigment colorée et non colorée ? Pourquoi les variations de la teneur en anthocyannes ne sont-elles pas reflétées par des variations dans les mesures spectrométriques ? Pourquoi le vieillissement produit-il une augmentation apparente de la quantité de pigment sous forme colorée ? Pourquoi les vins varient-ils nettement au sujet de la stabilité de leur couleur ?

L'auteur espère qu'en suivant les variations des mesures de la couleur par spectrométrie, les teneurs en anthocyannes, en anthocyannogènes ou leucoanthocyannes, et en tanin dans le vin au cours de l'élaboration et de la conservation, on pourra obtenir une information qui permettra de résoudre quelques-unes des questions énumérées ci-dessus.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Etudes au cours de la fermentation. — On utilise dix lots de six variétés de raisins. Chaque lot de 100 kg est divisé en deux parties selon une technique qui assure que chaque moitié est bien représentative de l'ensemble. Une moitié est écrasée dans un fouloir égrappoir traditionnel, puis mise à fermenter avec les pellicules pour la « fermentation de la vendange ». L'autre moitié est placée à l'autoclave et chauffée avec de la vapeur à 1,75 kg par cm^2 pendant 27 s. Les raisins chauffés sont écrasés au fouloir-égrappoir, agités 5 mn pour obtenir la diffusion du colorant à travers les pellicules, pressés, et le jus est utilisé pour la « fermentation en jus ». On ajoute à tous les lots 75 mg d'anhydride sulfureux par litre et un volume de culture de levures

de Montrachet pour 100 volumes. Toutes les fermentations sont conduites entre 24 et 27 °C.

Etudes du vieillissement. — Les vins destinés aux études de vieillissement ont été obtenus selon la manière traditionnelle. Après la fermentation ils ont été soutirés plusieurs fois jusqu'à ce qu'ils soient clairs, puis mis en bouteilles, et conservés à 13 °C ± 2 °C.

Echantillonnage. — Des échantillons ont été prélevés pendant la fermentation à 3, 6, 9° d'alcool et à la fin de la fermentation. Un échantillon supplémentaire du jus coloré était pris avant la fermentation. Tous les échantillons ont été filtrés sur terre d'infusoires, et immédiatement analysés.

Mesure de la couleur. — Les couleurs du jus et du vin sont déterminées par les mesures des densités optiques à 425 et 525 mμ sous une épaisseur de 2 mm avec un spectrophotomètre Coleman modèle 11 A Universal. Quand la teneur en acide sulfureux est suffisante pour affecter la couleur, on ajoute 0,04 ml d'eau oxygénée à 3 % à 10 ml de vin 10 mn avant la mesure de couleur.

Détermination des anthocyannes et leucoanthocyannes. — 2 ml de vin, puis 10 ml de mélange eau-méthanol-acide acétique (25-70-5 en volumes) sont pipetés sur 0,5 g de poudre de Nylon 66 (1) préparée spécialement, contenue dans une colonne de verre de 12 × 130 mm. La densité optique de l'éluat porté à 50 ml avec un mélange n butanol-acide chlorhydrique concentré (5-1 en volumes) est déterminée à 540 mμ sous 2 mm d'épaisseur et se rapporte aux anthocyannes. Une seconde partie aliquote est chauffée 33 mn dans l'eau bouillante, refroidie, ramenée au volume et sa densité optique est mesurée à 550 mμ. La différence de densité optique entre les échantillons chauffés et non chauffés, se rapporte aux leucoanthocyannes, bien qu'elle soit probablement due en partie à la formation de tanins colorés.

Dans les conditions de ce test, se produit l'hydrolyse des anthocyanosides en aglycones. Depuis que Schou (2) a signalé des coefficients d'extinction de 37,5 pour le malvidol et 10,7 pour le diglucoside, on pense qu'il est nécessaire de déterminer si l'augmentation de couleur que nous avons observée est due à l'hydrolyse. Au cours de l'hydrolyse complète du 3-monoglucoside de malvidol en malvidol, il n'y a pas augmentation d'absorption. Aussi, nous pensons qu'il est juste d'attribuer les augmentations de couleurs observées par chauffage, à la conversion des leucoanthocyannes et à la formation de tanins colorés.

Quand du sucre est présent, l'éluat brunit par chauffage et on obtient des résultats erronés. Le brunissement des échantillons chauffés est évité en refaisant le test comme auparavant, mais après avoir élué le sucre de la colonne avec 4 ml d'eau et en éliminant cette fraction avant d'éluer avec le mélange eau-méthanol-acide acétique. La différence de densité optique entre les échantillons chauffés et non chauffés se rapporte aux leucoanthocyannes. Cependant, comme quelques pigments sont élués par l'eau, il est essentiel de faire ce test sans lavage à l'eau pour déterminer la teneur en anthocyannes.

La poudre de polyamide est enlevée de la colonne de verre et dissoute dans la solution butanol-acide chlorhydrique (volume total 50 ml) et la densité optique est mesurée à 550 mμ. Une partie aliquote est chauffée 33 mn dans l'eau bouillante, refroidie, et la densité optique est de nouveau déterminée à 550 mμ. La densité optique de l'échantillon non chauffé est considérée comme anthocyannes et la différence entre les échantillons chauffé et non chauffé comme leucoanthocyannes.

pH. — Il est mesuré au pHmètre Beckman Modèle G.

Détermination du pourcentage de pigment dans la forme colorée. — SONDHEIMER (3) a déterminé le rapport entre le pH et les variations d'absorption du 3-monoglucoside de pélargonidol. Il a émis l'hypothèse que l'effet de l'activité des ions hydrogènes sur le spectre d'absorption d'un pigment peut être expliqué par l'existence d'un équilibre entre les ions hydronium, la forme acide (R^+) et la forme basique (ROH) de l'anthocyanidol. La réaction d'hydrolyse peut être considérée de la façon suivante :

$$R^+ + 2\,H_2O \leftrightharpoons ROH + H_3O^+$$

$$pK = \log \frac{R^+}{ROH} + pH$$

Une augmentation des ions hydronium résultant d'une augmentation de l'activité des ions H produirait un passage de la pseudobase (forme base sans couleur de l'anthocyanne) au sel oxonium coloré (forme acide). En employant une solution $4{,}27 \times 10^{-3}$ molaire de 3-monoglucoside du pélargonidol dans un tampon de Sorensen au citrate disodique-acide chlorhydrique, SONDHEIMER a obtenu une valeur de pK de $2{,}98 \mp 0{,}06$ sur une gamme de pH de 1,18 à 4,01, dans laquelle la concentration R^+ varie entre 98,4 et 10,8 %. Il a trouvé aussi que le pH est indépendant de la concentration en anthocyanoside et que l'équilibre peut être approché de chaque côté.

En utilisant la méthode de SONDHEIMER, nous avons déterminé les variations de densité optique du 3-monoglucoside du malvidol (avec le spectrophotomètre Bausch et Lomb Spectronic 505) dans la même gamme de pH et nous avons obtenu une valeur de pK de $2{,}94 \mp 0{,}06$. L'accord complet de ces données permet la détermination du pourcentage de pigment qui se trouve sous forme colorée dans le vin, à condition que les divers pigments trouvés dans ces vins réagissent comme le malvidol.

Ce raisonnement est confirmé par les travaux de RANKINE et collaborateurs (4), de ALBACH et collaborateurs (5), avec les pigments naturels et de SPAETH et ROSENBLATT (6) avec les pigments synthétiques. Les deux équipes de RANKINE et de ALBACH ont toutes deux trouvé, avec des variétés de raisins intéressantes pour nous, que le malvidol est le principal pigment présent, le reste étant constitué principalement de pétunidol et de delphinidol. SPAETH et ROSENBLATT rapportent les concentrations suivantes, en mg par litre, nécessaires pour donner une densité optique de 1,00 à travers un faisceaux lumineux de 1 cm : malvidol : 10,8 ; pétunidol : 10,7 ; delphinidol : 11,0. Une confirmation supplémentaire est donnée par la proximité des valeurs de pH des 3-monoglucosides du pélargonidol et du malvidol, ce qui suggère que les valeurs pour le pétunidol et le delphinidol puissent aussi être semblables.

RÉSULTATS OBTENUS

Etudes au cours de la fermentation. — Les variations moyennes se produisant dans les valeurs d'absorption (mesurées à 425 et 525 mμ) et les teneurs en anthocyannes et leucoanthocyannes pendant les fermentations de moût sont données au tableau 1. Les variations dans la « forme colorée », et dans les fractions « éluat » et « nylon » sont aussi indiquées, car elles aident à expliquer le comportement de la couleur. La « forme colorée », qui exprime le pourcentage de pigment sous forme colorée dans le vin à un pH donné, montre des variations de la densité optique qui peuvent s'expliquer comme le résultat des variations du pH pendant la fermentation. CHANDLER et SWAIN (7) ont trouvé que les anthocyannes sont rapidement éluées dans

les colonnes de polyamides, les leucoanthocyannes sont plus fermement retenues, tandis que les produits polymérisés sont adsorbés très fortement.

Ainsi les fractions « éluat » et « nylon » montrent non seulement des variations dans les quantités d'anthocyannes et de leucoanthocyannes, mais aussi dans le degré de polymérisation.

TABLEAU 1

Variations pendant la fermentation de la vendange foulée

	Valeur initiale	Alcool formé			
		3°	6°	9°	12°
		% de la valeur initiale			
425 mμ	0,57	100,0	117,1	128,8	119,3
525 mμ	0,95	100,0	111,7	119,5	104,4
Forme colorée	25,50 (1)	100,0	101,5	103,2	101,5
Anthocyannes	4,60	100,0	124,0	140,0	124,5
Leucoanthocyannes	1,48	100,0	120,1	140,5	150,5
Eluat (2)	4,95	100,0	120,4	135,6	118,4
Nylon (3)	1,12	100,0	135,6	173,2	186,3

(1) en %, toutes les autres valeurs sont en densité optique.
(2) Somme des anthocyannes et des leucoanthocyannes dans l'éluat.
(3) Somme des anthocyannes et des leucoanthocyannes retenues par le nylon.

Dans les fermentations de la vendange, il est difficile de déterminer l'effet de la fermentation à cause de l'extraction continue des anthocyannes et leucoanthocyannes du marc. Pour cette raison, des fermentations ont aussi été conduites avec des jus colorés. Comme on peut le voir dans le tableau 2 les valeurs d'absorption diminuent au cours de la fermentation, en dépit de l'augmentation assez élevée du pourcentage de forme colorée dans le pigment, due à la diminution du pH. Bien que la teneur en anthocyannes diminue aussi pendant la fermentation, il est intéressant de noter que la diminution n'est pas suffisante pour produire une chute de la valeur d'absorption. La teneur en leucoanthocyannes diminue d'abord, puis augmente pour atteindre sa valeur d'origine à la fin de la fermentation.

TABLEAU 2

Variations pendant la fermentation du jus

	Valeur initiale	Alcool formé				
		0°	3°	6°	9°	12°
		% de la valeur initiale				
425 mμ	0,65	100,0	78,1	73,2	67,3	64,6
525 mμ	1,00	100,0	88,4	80,3	67,3	62,4
Forme colorée	18,30	100,0	126,8	132,3	128,2	123,5
Anthocyannes	4,35	100,0	88,5	89,0	86,2	69,5
Leucoanthocyannes	1,50	100,0	81,6	90,0	90,0	98,2
Eluat	4,45	100,0	92,2	91,9	87,1	71,7
Nylon	1,37	100,0	70,9	81,8	83,4	95,5

La diminution de la quantité des anthocyannes et des leucoanthocyannes éluables et l'augmentation, après une diminution initiale, des substances retenues par le nylon, indiquent que la polymérisation se produit de façon appréciable vers la fin de la fermentation.

Si nous considérons que la même perte se produit dans les fermentations de la vendange foulée que dans celles du jus, nous pouvons déterminer le véritable rapport d'extraction dans les fermentations de la vendange. Comme on peut le voir dans le tableau 3, quand les valeurs observées ont été ajustées pour des pertes connues,

TABLEAU 3

Rapport d'augmentation pendant la fermentation de la vendange

	Alcool formé			
	3°	6°	9°	12°
	% de la valeur finale			
425 mμ	82,0	90,5	104,4	100,0
525 mμ	79,3	90,5	107,2	100,0
Leucoanthocyannes	72,8	85,0	98,0	100,0
Anthocyannes	84,3	84,3	100,0	100,0

l'absorption atteint un maximum à 9° d'alcool puis diminue ; l'extraction des anthocyannes est presque complète à ce moment, tandis qu'il ne se produit aucune extraction supplémentaire de leucoanthocyannes de 9 à 12° d'alcool. Ainsi, tant qu'il s'agit de l'intensité de la couleur, il n'y a rien à gagner à garder le vin en contact avec les pellicules au-delà de 9° d'alcool. Cependant, nous désirons souligner que les valeurs données dans ces trois tableaux sont des moyennes de dix fermentations et qu'ainsi elles représentent un comportement moyen. Dans quelques cas, nous avons trouvé une petite augmentation de l'intensité colorante au-delà de 9° d'alcool.

Etudes de vieillissement. — Pendant le vieillissement, il se produit une diminution nette de l'intensité colorante dans les trois premiers mois ; elle est plus faible pendant

TABLEAU 4

Variations au cours du vieillissement (1)

	Valeur initiale	Mois de vieillissement			
		0	3	9	18
		% de la valeur initiale			
425 mμ	0,43	100,0	94,5	91,3	90,2
525 mμ	0,66	100,0	80,3	71,6	69,4
Forme colorée	17,80	100,0	93,8	93,8	88,7
Anthocyannes	4,97	100,0	64,9	47,2	49,7
Leucoanthocyannes	2,75	100,0	60,9	54,7	65,1
Eluat	4,59	100,0	62,2	46,1	48,6
Nylon	3,14	100,0	64,8	55,6	64,8

(1) Moyenne de 27 vins élaborés à partir de 15 variétés de raisins.

les dix mois suivants, et la diminution est très petite de 9 à 18 mois. La diminution des anthocyannes, bien que suivant le même schéma que les valeurs d'absorption, est beaucoup plus grande. Ces faits, combinés avec la diminution calculée du pourcentage de la forme colorée dans le pigment, ont pour résultat une diminution de la densité optique à 525 mμ plus grande qu'elle ne paraît. Les leucoanthocyannes diminuent pendant les neuf premiers mois et augmentent dans les neuf suivants comme les fractions « éluat » et « nylon ». Cela suggère que l'augmentation de la couleur après hydrolyse est due à la formation de tanins colorés plutôt qu'à une augmentation dans la quantité des leucoanthocyannes.

Le tableau 5 permet de comparer quelques caractères de vins d'âges variés. La diminution dans les rapports d'absorption de 525 à 425 mμ, qui est une mesure de la perte de pigment et du brunissement, puisque le pigment absorbe plus fortement à 525 mμ qu'à 425 mμ, alors que c'est l'inverse pour les produits du brunissement, montre peu de variation au-delà de dix-huit mois. Il n'en est pas de même pour les deux autres rapports qui varient beaucoup au cours du vieillissement prolongé. La diminution du rapport « éluat » à « nylon » reflète le pourcentage croissant des produits

TABLEAU 5

Comparaison de vins d'âges divers

	Mois de vieillissement				
	0 (1)	3 (1)	9 (1)	18 (1)	120 (2)
525 : 425	1,44	1,22	1,18	1,09	1,04
Eluat : nylon	1,46	1,40	1,21	1,10	0,69
Anthocyannes : Leucoanthocyannes	1,84	1,85	1,55	1,38	0,60

(1) Moyenne de 27 vins élaborés à partir de 15 variétés de raisins.
(2) Moyenne de 13 vins élaborés à partir de 9 variétés de raisins.

TABLEAU 6

Comparaison des densités optiques mesurées à 525 mμ avec celles calculées à partir de la teneur en anthocyannes

	Pendant la fermentation				
	Alcool formé				
	0°	3°	6°	9°	12°
Mesurées	1,00	0,89	0,80	0,67	0,63
Calculées (1)	0,80	0,90	0,94	0,88	0,68
	Pendant le vieillissement				
	Age en mois				
	0 (2)	3 (2)	9 (2)	18 (2)	120 (3)
Mesurées	0,66	0,53	0,47	0,46	0,74
Calculées (1)	0,89	0,54	0,39	0,39	0,41

(1) Calcul de la teneur en anthocyannes de forme colorée.
(2) Moyenne de 27 vins élaboré à partir de 15 variétés de raisins.
(3) Moyenne de 13 vins élaborés à partir de 9 variétés de raisins.

du brunissement et des leucoanthocyannes, mais montre aussi que la polymérisation augmente au cours du vieillissement. La diminution nette du rapport anthocyannes à leucoanthocyannes est due à une perte d'anthocyannes beaucoup plus importante que celle de leucoanthocyannes, ce qui pourrait s'interpréter par une conversion de leucoanthocyannes en anthocyannes au cours du vieillissement.

Etudes du comportement de la couleur. — Si les pigments se comportaient dans le vin comme les pigments purs en solution, la teneur en anthocyannes, multipliée par le pourcentage du pigment sous la forme colorée au pH du vin, serait égale à la densité optique du vin mesurée à 525 mμ. D'après les données du tableau 6, il est évident que le comportement du pigment dans le vin ne suit pas ce raisonnement, puisque la densité optique calculée est généralement plus élevée pendant la fermentation et plus faible pendant le vieillissement qu'elle devrait être. On peut l'attribuer soit aux variations des caractéristiques d'absorption du vin ou à la capacité des pigments de répondre aux variations du pH.

Comme on le voit dans le tableau 7, la dilution affecte le comportement du pigment dans le vin. Quand le vin est dilué avec des mélanges de cinq volumes d'eau ou de butanol et d'un volume d'acide chlorhydrique, on observe une augmentation

TABLEAU 7

Effet de la dilution à différents pH sur la densité optique à 525 mμ

Diluant	pH	Augmentation de la densité optique en % (1)					
		Rapport de dilution					
		1/1	1/4	1/9	1/14	1/19	1/24
Eau	4,00						104
Eau	3,40						101
Eau	2,51						105
Eau/ClH(5/1)	< 0	108	111	119	116	123	125
Butanol /ClH (5/1)	< 0	123	129	139	141	144	147

(1) Toutes les mesures de densité optique sont corrigées de la dilution.

progressive de la densité optique avec la dilution croissante. L'effet de dilution devient plus prononcé aux pH bas et varie avec le diluant utilisé. Puisqu'une dilution donnée est faite sans modification du pH, on peut penser que l'effet de dilution rend un plus grand pourcentage de la quantité de pigment sensible aux modifications du pH.

Le tableau 8 représente la réponse du pigment dans le vin à la variation de pH et à la dilution. Dans toutes les colonnes, sauf les deux dernières, l'augmentation de la densité optique est due à la diminution du pH ; dans les deux dernières colonnes elle est due à l'effet combiné de la diminution de pH et de la dilution.

L'augmentation de la densité optique du vin à 525 mμ dans la zone de pH de 3,99 à 0 représente seulement une fraction de l'augmentation (forme colorée) qui serait attendue sur la base de la réponse du 3-monoglucoside du malvidol à la variation du pH.

La raison de cette différence est donnée par les résultats « Différence de densité optique » qui sont obtenus en retranchant la densité optique du vin à pH 4,42 des densités optiques à pH plus bas. Si nous n'envisageons que les différences de densité optique, nous trouvons qu'environ 7 % de la couleur du vin à pH 3,99 répond de manière semblable à celle de la « forme colorée » dans la zone de pH de 3,99 à 2,40.

TABLEAU 8

Effet du pH sur la densité optique

	Valeur initiale 3,99	% de la valeur initiale					
		pH					
		3,48	3,00	2,40	0,58	< 0 (1)	< 0 (2)
525 mμ	1,38	113	127	149	240	274	403
Forme colorée	11,00 (3)	217	394	665	909	909	909
Différence de densité optique	0,09 (4)	210	436	786	2235	2780	4850

(1) 5 ml vin/1 ml ClH concentré.
(2) 1 ml vin/25 ml butanol - ClH (5/1).
(3) En %, toutes les autres valeurs sont en densité optique.
(4) Augmentation de la densité optique à 525 mμ, de pH 4,42 à 3,99.

SONDHEIMER et KERTESZ (8) ont trouvé que l'augmentation d'absorption correspondant à un abaissement du pH est proportionnelle à la quantité de pigment présent. Si cela est vrai pour le vin, cela signifierait que seulement 7 % de la couleur à pH 3,99 est due aux pigments. Cette observation est confirmée par le fait que l'augmentation de densité optique du vin dans la zone de pH 3,99 à 2,40 peut être entièrement attribuée à la réponse de cette quantité précise de pigment à la variation de pH. Cependant la grande augmentation de la « différence densité optique », au-dessous de pH 2,40, indique une teneur de pigment supérieure à celle qui est calculée d'après la réponse aux variations de pH à des pH plus élevés. Cette apparente contradiction avec la découverte de SONDHEIMER et KERTESZ peut être expliquée si nous acceptons le concept des deux formes de pigment dans le vin : une sensible au pH et l'autre non sensible. La quantité de pigment dans la forme sensible au pH reste constante vers pH 2,40, mais au-dessous de cette valeur elle augmente aux dépens de la forme non sensible. Cette indifférence de la plus grande quantité des pigments du vin aux variations de pH, nous conduit à penser que dans le vin, ils se comportent différemment qu'en solutions synthétiques pures.

DISCUSSION

Dans le paragraphe précédent nous avons étudié le comportement de la couleur pendant la fermentation et le vieillissement, et les résultats obtenus indiquent la présence d'une association des pigments. Puisque la stabilité de la couleur est ce qui nous intéresse d'abord, une discussion des mécanismes participant à la perte de couleur et à la combinaison des pigments aiderait à comprendre son comportement. Il est généralement admis que la perte de couleur est due à l'oxydation des anthocyannes, à l'hydrolyse des anthocyanosides en aglycones correspondants, et à la formation de particules colloïdales suffisamment importantes pour provoquer la précipitation.

DURMISHIDZE (9) a trouvé que pendant la vinification en rouge, en même temps que l'extraction du tanin et des pigments, se produit une élimination concurrente de ces substances dans le jus. Il a attribué cette perte :

1° à des molécules oxydées de catéchines et d'anthocyannes subissant une condensation puis une précipitation ; 2° à une combinaison du tanin et des pigments avec divers constituants du jus de fermentation, tels que protéines, aldéhydes, etc. Il a établi plus tard que, bien que l'oxydation cesse pendant la fermentation active,

une oxydation est possible pendant les périodes initiale et terminale. Nos résultats semblent le confirmer puisque la plus grande perte de pigment se produit au cours de la fermentation du jus de 0 à 3° et de 9 à 12° d'alcool, avec une très faible perte entre 3 et 9°.

LUKTON et collaborateurs (10), dans leurs études de la dégradation du 3-monoglucoside du pélargonidol, ont trouvé que le rapport d'hydrolyse de l'anthocyanoside en présence d'oxygène dépend du pH et est apparemment directement proportionnel à la quantité de pigment sous forme pseudobase incolore. Cependant, dans le cas de la dégradation du pigment en présence d'azote, le rapport est virtuellement indépendant du pH. Les principaux produits de la dégradation du pigment dans l'oxygène sont un précipité brun rouge et un pigment soluble brun. Ces auteurs ont pensé que deux processus pourraient exister en présence d'oxygène : 1° la formation d'un précipité à partir de la pseudobase incolore du glycoside ; 2° la dégradation du précipité brun rouge en produits brunâtres. Dans l'azote la forme pseudobase incolore et la forme colorée peuvent être également susceptibles de dégradation.

MARKAHIS et ses collaborateurs (11), travaillant avec le 3-monoglucoside de pélargonidol, ont conclu que l'eau participe aux réactions de décoloration puisqu'on ne constate pas de destruction du pigment quand il est conservé à l'état sec. L'hydrolyse de la liaison glycosidique est considérée comme une possibilité, puisqu'une telle réaction libérerait un aglycone, qui, d'après HUANG (12), se décolorerait plus rapidement que le glycoside. Cependant quand MARKAHIS a extrait les solutions de pigment pur à plusieurs moments au cours du processus de décoloration (solutions à pH 2,0 et 3,4 portées 5 h à 100 °C), il n'a pas observé la présence de l'aglycone. Un autre type d'hydrolyse a donc été envisagé ; il comprendrait l'ouverture d'un anneau pyrilium en position 1-2 avec formation d'une cétone, c'est-à-dire une « chalcone » substituée, qu'une dégradation ultérieure conduirait éventuellement au précipité brun. SASTRY et TISCHER (13) ont observé que la destruction du pigment par chauffage en solutions pures est beaucoup plus importante que dans le jus de raisin. Ils ont trouvé également que les tanins présents dans le jus ont un net effet de protection des pigments vis-à-vis de la destruction par les radiations ultra-violettes.

Les observations précédentes indiquent entre autres, que l'hydrolyse des anthocyanosides en aglycones est douteuse dans le vin. D'anciennes expériences faites dans nos laboratoires tendent à le confirmer. Lors de la fermentation d'un jus de raisin décoloré auquel du 3-monoglucoside du cyanidol a été ajouté, aucune variation dans le pigment ne peut être décelée par chromatographie. La présence d'aglycones n'a pas pu non plus être démontrée dans des vins d'âges divers. Cette observation n'exclut pas naturellement que les aglycones aient pu précipiter au cours du vieillissement. Cependant, à cause des difficultés rencontrées dans la chromatographie des précipités, il a été impossible de déterminer avec certitude si les précipités contiennent des glycosides, des aglycones ou un mélange des deux.

La discussion précédente a montré que l'oxydation produit la destruction du pigment et que le pH et la présence de tanins peuvent affecter le rapport d'oxydation. Cependant nous n'avons pas pu obtenir une corrélation entre le pH ou la teneur en tanin des vins et la perte de pigment pendant les périodes initiale et finale de la fermentation ou pendant les trois premiers mois du vieillissement, au cours desquels on peut s'attendre à une oxydation. Certains tanins seulement pourraient avoir un effet protecteur sur les pigments, et ce serait la raison de l'absence de corrélation entre le pH et la dégradation du pigment. C'est ce qu'a confirmé DURMISHIDZE (9), en établissant que la d-catéchine est parmi les tanins du vin la substance qui agit le plus fortement comme antioxydant. D'après SCHEINER (14), puisque la p. benzo-

quinone est capable de décolorer les anthocyanosides non enzymatiquement, la décoloration du vin comprendrait une réaction entre les anthocyanosides et la quinone produite par l'oxydation du catéchol ou d'un substrat naturel semblable. Il est donc logique d'admettre que la teneur en certains tanins particuliers est plus importante dans l'oxydation que la teneur totale en tanins.

Bien que le rôle des tanins soit reconnu dans l'oxydation, divers chercheurs ont suggéré que d'autres facteurs pouvaient être d'importance égale ou même plus grande. SASTRY et TISCHER (13) pensent que c'est surtout la forme sous laquelle tanins et pigments sont présents qui est capitale. D'après DURMISHIDZE (9), la combinaison des catéchines avec les pigments, serait ainsi la cause de la diminution de l'oxydation des tanins. Dans le tableau 8 nous démontrons à la fois l'association et la dissociation du pigment dans les vins. Récemment nous avons observé divers degrés d'association dans les vins de même âge. (Malheureusement ces études n'ont pas été commencées assez tôt pour que nous puissions encore déterminer si le degré d'association est en corrélation avec la perte de pigment.) Etant donné ces observations et compte tenu de notre opinion selon laquelle la teneur en certains tanins particuliers est seulement en partie responsable de la susceptibilité variable des vins à l'oxydation, nous désirons suggérer l'association du pigment comme un important facteur dans l'oxydation ; c'est encore un facteur déterminant dans la stabilité de la couleur au cours du vieillissement.

Un résumé des réactions colorées, telles que nous les envisageons, est donné dans le schéma de la figure 1, qui montre notre conception des relations responsables

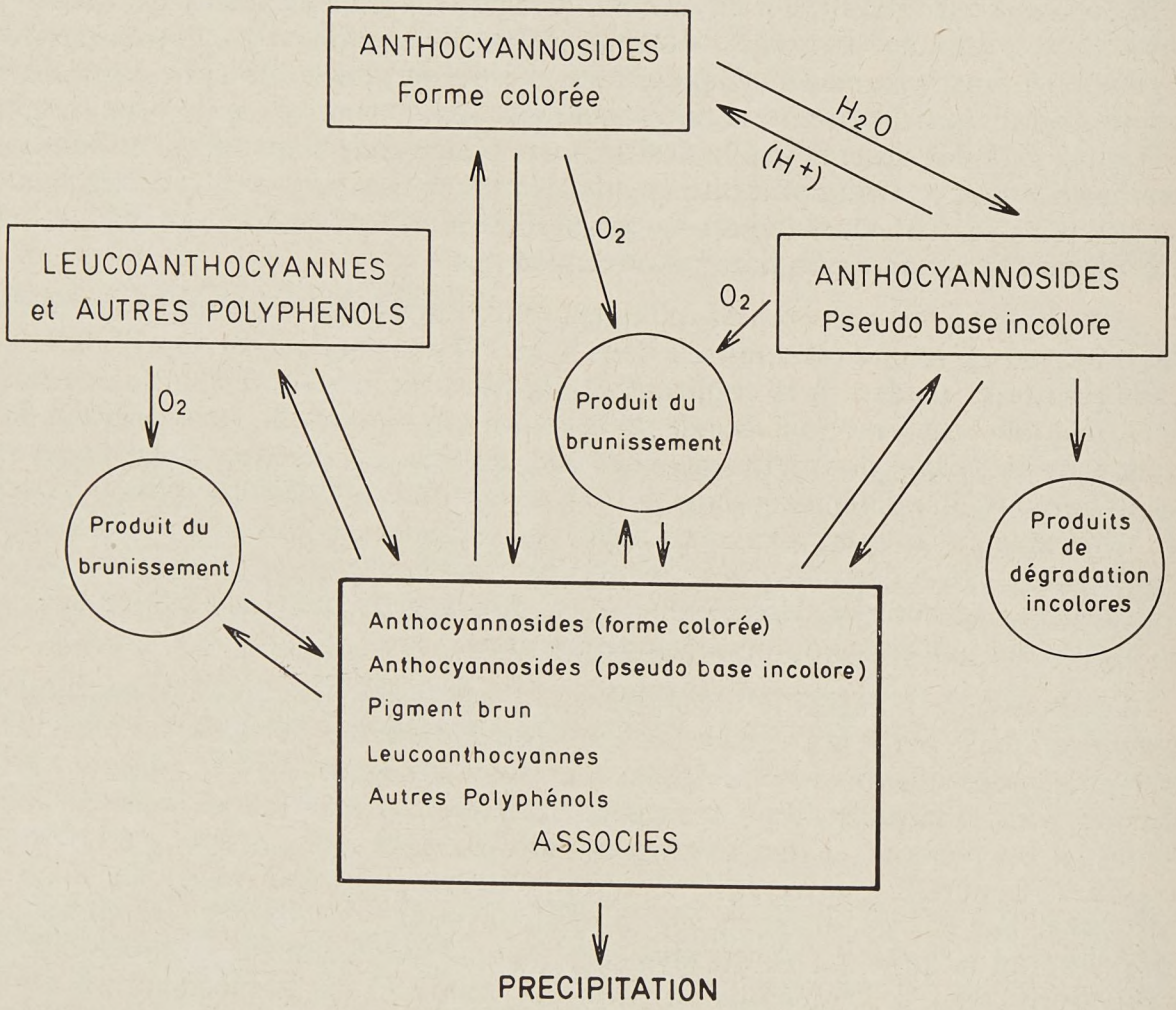


FIG. 1. — Diagramme des réactions colorées.

du comportement de la couleur dans les vins. Nous considérons ces phénomènes comme un système constamment en évolution, dont toutes les réactions sont réversibles, sauf la décoloration de la pseudobase et le brunissement des pigments et autres polyphénols. (Même ces réactions ne sont pas complètement irréversibles car, à certains stades d'oxydation, les quinones peuvent être réduites à leur forme d'origine). Nous pensons que lorsque nous aurons complètement compris les facteurs affectant ces équilibres, nous serons capables de prédire le comportement de la couleur d'un vin donné.

Références bibliographiques

(1) H.W. Berg et M. Akiyoshi. *Amer. Journ. Enol. Vitic.*, 1962, **13**, 126. (2) S.A. Schou. *Helv. Chim. Acta*, 1927, **10**, 907. (3) E. Sondheimer. *J. American Chem. Soc.*, 1953, **75**, 1507. (4) B.C. Rankine, R.E, Kepner et A.D. Webb, *Amer. Journ. Enology*, 1958, **9**, 105. (5) F. Albach, R.E. Kepner et A.D. Webb, *Amer. Journ. Enol. Vitic.*, 1959, **10**, 164. (6) E.C. Spaeth et D.H. Rosenblatt, *Anal. Chem.*, 1950, **22**, 1321. (7) B.V. Chandler et T. Swain, *Nature*, 1959, **183**, 989. (8) E. Sondheimer et Z.I. Kertesz, *Anal. Chem.*, 1948, **20**, 245. (9) S.V. Durmishidze. *Tannin Compounds and Anthocyanins of Grape Vines and Wines*. Academy of Science, Moscou, 1955. (10) A. Lukton, C.O. Chichester et G. MacKinney. *Food Technol.*, 1956, **10**, 427.

(11) P. Markakis, G.E. Livingston et C.R. Fellers. *Foods Research*, 1957, **22**, 117. (12) H.T. Huang, *Agric. and Food Chem.*, 1955, **3**, 141. (13) L.V.L. Sastry et R.G. Tischer. *Food Technol.*, 1952, **6**, 264. (14) D.M. Scheiner. *The Enzymatic Decolorization of Anthocyanin Pigments*. Ph. D. Thesis, Cornell Univ., 1960.

Résumé

On a fait fermenter séparément une vendange rouge foulée et le jus de la même vendange après extraction par la chaleur de la matière colorante des pellicules. Il a été trouvé que les pertes de matière colorante se produisent principalement au début et à la fin de la fermentation. Par comparaison des deux fermentations, on a déterminé les conditions de l'extraction de la matière colorante.

Les modifications qui se produisent pendant le vieillissement ont été suivies pendant dix-huit mois. On a constaté que la diminution la plus importante de la matière colorante s'observe pendant les trois premiers mois du vieillissement.

On a constaté en outre que les modifications du spectre d'absorption des pigments dans le vin en fonction du pH sont différentes de celles des pigments en solution pure. Les résultats indiquent que cette différence est due à une combinaison des pigments dans le vin.

Quoique d'autres chercheurs aient montré l'existence d'une relation directe entre le pH et l'oxydation du pigment pur en solution, il ne nous a pas été possible de mettre en évidence une telle relation dans le vin pendant les périodes où l'on peut penser que le vin est le siège de phénomènes d'oxydation. Ce résultat, ajouté à nos observations concernant les différents états de combinaison des pigments dans le vin, nous conduit à suggérer que cet état de combinaison est un des facteurs responsables des comportements différents des vins vis-à-vis de l'oxydation.

STABILISATION OF ANTHOCYANS. COLOR BEHAVIOR IN RED WINES

H.W. BERG

Summary

Both must and heat-extracted, red juice fermentations of the same lots of grapes were analyzed at intervals throughout the fermentation. It was found that major pigment losses occurred during the first and last stages of the fermentation. By comparing the two fermentations the rate of color extraction during must fermentation was determined.

Changes occurring on aging were followed over a period of 18 months. The major pigment loss occurred during the first 3 months of aging.

Spectral color response to pH change of the pigments in wine was found to be different from that of pure pigment in solution. The data indicated this was due to association of the pigments in wine.

Though other investigators have demonstrated a direct relationship between pH and oxidation of pure pigment in solution, we were unable to obtain this correlation in wine during those periods when oxidation could be expected to occur. This, plus our finding of various degrees of pigment association in wines, leads us to suggest the degree of association as one of the factors responsable for the varying susceptibility of wines to oxidation.

STABILISIERUNG DER ANTHOZYANE. VERHALTEN DES ROTWEINFARBSTOFFES

H.W. BERG

Zusammenfassung

Man hat rote Trauben und den durch Hitzeextraktion aus dem gleichen Traubenmaterial erhaltenen roten Saft während der Gärung beobachtet. Man fand, dass die hauptsächlichsten Farbverluste am Anfang und Ende der Gärung eintreten. Durch Vergleich der beiden Vergärungsproben konnte das Mass der Farbstoffauslaugung während der Gärung bestimmt werden.

Die Veränderungen, die sich während der Alterung ergeben, wurden imVerlauf von 18 Monaten bestimmt. Man fand, dass die grössten Farbverluste in den ersten 3 Monaten eintreten.

Die Veränderungen des Adsorptionsspektrums bei verschiedenem pH sind im Wein anders als in den reinen Farbstofflösungen. Dies weist auf eine Bindung des Farbstoffes mit Weinbestandteilen hin.

Die von verschiedenen Forschern gefundene direkte Beziehung zwischen dem pH-Wert und der Oxydation reiner Farbstofflösungen konnte von uns im Wein in jenen Zeitabschnitten, wo sich solche Oxydationen abspielen könnten, nicht gefunden werden. Diese Tatsache und die Farbstoffbindung im Wein lässt uns vermuten, dass diese Bindungen ein wesentlicher Faktor für das unterschiedliche Verhalten der Rotweine gegenüber Oxydation darstellt.

STABILIZZAZIONE DEGLI ANTOCIANI. COMPORTAMENTO DEL COLORE NEI VINI ROSSI

H.W. BERG

RIASSUNTO

Abbiamo fatto fermentare separatamente un'uva rossa pigiata ed il succo della stessa uva dopo estrazione col calore della materia colorante dalle pellicole. Si è rivelato che le perdite di materia colorante si producono principalmente all'inizio ed alla fine della fermentazione. Per confronto die due fermentazioni si sono determinante le condizioni della estrazione della materia colorante.

Le modificazioni che si producono durante l'invecchiamento sono state seguite per diciotto mesi. Si è constatato che la diminuzione più importante della materia colorante si osserva durante i primi tre mesi di invecchiamente.

Si è constatato inoltre che le modificazioni dello spettro d'assorbimento dei pigmenti nel vino in fuzione del pH sono differenti da quelle dei pigmenti in soluzione pura. I risultati indicano che questa differenza è devuta ad una combinazione dei pigmenti nel vino.

Benchè altri ricercatori abbiano mostrato l'esistenza di una relazione diretta tra il pH e l'ossidazione del pigmento puro in soluzione, non ci è stato possibile mettere in evidenza una tale relazione nel vino durante i periodi nei quali si puó pensare che il vino è la sede di fenomeni d'ossidazione. Questo risultato, aggiunto alle nostre osservazioni concernenti i differenti stati di combinazione dei pigmenti nel vino, ci porta à suggerire che questo stato di combinazione è uno dei fattori responsabili dei comportamenti differenti dei vini nei confronti dell'ossidazione.

ESTABILIZACIÓN DE LOS ANTOCIANOS. COMPORTAMIENTO DEL COLOR EN LOS VINOS TINTOS

H.W. BERG

RESUMEN

Se ha hecho fermentar por separado una vendimia tinta estrujada y el jugo de la misma vendimia después de extracción por calor, de la materia colorante del hollejo. Se ha encontrado que las pérdidas de materia colorante se producen principalmente al principio y al final de la fermentación. Por comparación de las dos fermentaciones se han determinado las condiciones de la extracción de la materia colorante.

Las modificaciones que se producen durante el envejecimiento han sido seguidas durante dieciocho meses. Se ha comprobado que la disminución más importante de la materia colorante se observa durante los tres primeros meses del envejecimiento.

Se ha comprobado además, que las modificaciones del espectro de absorción de los pigmentos en el vino, en functión del pH son diferentes de las de los pigmentos en solución pura. Los resultados indican que esta diferencia es debida a una combinación de los pigmentos en el vino.

Aunque otros investigadores hayan mostrado la existencia de una relación directa entre el pH y la oxidación del pigmento puro en solución, no nos ha sido posible poner en evidencia tal relación en el vino durante los periodos en donde se pueda pensar que el vino experimenta fenómenos de oxidación. Este resultado, agregado a muestras observaciones concernientes a los diferentes estados de combinación de los pigmentos en el vino, nos conduce a sugerir que este estado de combinación es uno de los factores responsables de los comportamientos diferentes de los vinos frente a la oxidación.

INTERVENTION DE C. CANTARELLI

Institut des Industries Agricoles, Université de Pérouse (Italie)

La stabilisation des vins vis-à-vis de la madérisation par élimination des leucoanthocyannes

Dans le cadre des traitements de stabilisation des anthocyannes, il nous semble intéressant de rappeler des recherches récentes au sujet de la stabilisation des vins (surtout des vins blancs) vis-à-vis des phénomènes de madérisation, qui se produisent si fréquemment, et qui représentent un des plus graves problèmes pour l'œnologie des pays chauds. Il a été clairement démontré que ce phénomène est principalement dû à la présence de polyphénols, comme accepteurs d'oxygène et facteurs directs du brunissement (1, 4).

L'élimination des polyphénols responsables de ce défaut peut ralentir considérablement et même empêcher la madérisation. Nous avons exécuté plusieurs essais à ce sujet (1, 2, 5), et d'autres résultats également positifs ont été obtenus par DE VILLIERS (4) en Afrique du Sud et WUCHERPFENNIG et BRETTHAUER (6) en Allemagne.

Nous avons utilisé dans nos essais des systèmes-modèles représentés par des solutions simples des différents polyphénols purifiés extraits du raisin : anthocyannes, flavones, catéchines et leucoanthocyannes. Ces dernières paraissent être les responsables directs du brunissement de la maderation et, comme cela a été démontré par WUCHERPFENNIG et BRETTHAUER (6), des accepteurs d'oxygène dont le rôle est de première importance dans les phénomènes de madérisation.

En travaillant tant sur des vins que sur des leucoanthocyannes purifiées extraites de raisins blancs, dans lesquels elles représentent la plus grande partie des polyphénols (3), nous avons examiné les effets de différents produits capables de soustraire ces polyphénols avec une certaine spécificité.

Notamment, nous avons examiné, à côté des clarifiants protéiques traditionnels, quelques polymères synthétiques qui fixent les phénols par leurs liaisons de type peptidique, les traitements par adsorption physique tels que les charbons actifs, la bentonite, la cellulose, les alginates, etc.

L'emploi de polymères de synthèse, et tout particulièrement du polyvinyl-pyrrolidone hautement polymérisé et des superpolyamides, tels que le nylon, semble donner des résultats d'un très grand intérêt, du fait que ces produits :

— ont une très grande activité d'adsorption, avec une certaine spécificité envers les leucoanthocyannes, de telle sorte qu'ils sont plus détanisants que décolorants ;
— étant insolubles, ne donnent pas lieu à des phénomènes de surcollage ;
— peuvent être facilement et rapidement utilisés, soit par dispersion, soit par traitement sur colonne aussi bien que sur plaques au moment de la filtration.

Nous donnons ici, à titre d'exemple, un bref aperçu des données expérimentales relatives aux essais que nous avons exécutés sur les vins.

TABLEAU 1

Régression de la teneur en polyphénols, décoloration et protection contre le brunissement par le traitement des vins blancs avec différents produits

Les chiffres donnent les valeurs de régression, calculées en pourcentage par rapport au témoin non traité, pour des essais exécutés sur quatre vins blancs différents.

Traitement	Régression polyphénols totaux	Régression leucoanthocyannes	Régression D.O. 277 mμ	Régression de la couleur (D.O. à 440 mμ)	
				avant madérisation	après madérisation
Albumine de sang	de 4 à 6	de 10 à 41	de 3 à 4	de 27 à 30	de 2 à 17
Albumine d'œuf	« 2 « 4	« 10 « 44	« 1 « 9	« 15 « 29	« 1 « 19
Gélatine	« 2 « 7	« 16 « 48	« 1 « 4	« 18 « 20	« 3 « 20
Caséine	« 3 « 7	« 10 « 48	« 1 « 9	« 19 « 26	« 14 « 24
Polyvinylpyrrolidone K15	28	55	34	52	—
« K60	17	71	43	46	—
« Polyclar	29	46	33	68	78
Superpolyamides Nylon 66	« 18 « 23	« 56 « 81	« 17 « 45	« 28 « 41	« 42 « 57
Charbon actif Enorit	« 12 « 17	« 43 « 61	« 21 « 61	« 46 « 53	« 30 « 37
« « Carboraffin	« 12 « 29	« 44 « 58	« 21 « 31	« 50 « 55	« 44 « 46
« « Antichromos	« 3 « 19	« 46 « 68	« 18 « 26	« 52 « 55	« 14 « 49
« « Norit vin B	« 8 « 23	« 26 « 41	« 13 « 27	« 28 « 44	« 32 « 40

On peut remarquer dans ces données que l'activité détanisante des polymères synthétiques est considérable. La régression de la couleur est également importante ; elle est de la même grandeur que ce qu'on peut obtenir avec les charbons actifs aux doses courantes. La différence entre les deux types de traitement réside dans le fait que, alors qu'avec les polymères la régression de la couleur après madérisation est la même ou est plus grande qu'avant, avec les charbons la décoloration initiale ne correspond pas au même degré de décoloration après madérisation. Ce fait démontre pourtant que la protection exercée par les polymères est effective, alors qu'avec le charbon elle est seulement apparente. Les traitements avec les protéines aboutissent aux mêmes résultats que les polymères synthétiques, mais avec le défaut de donner de dangereux surcollages.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(1) C, CANTARELLI. *Boll. Ric. C. Paulsen*, 1962, **1**, 27. (2) C. CANTARELLI. *Atti Acc. Ital. Vite e Vino*, 1962, **14**. (3) C. CANTARELLI, C. PERI. *The leucoanthocyanins of grapes*, en cours de publication dans « Nature ». (4) J.P. DE VILLIERS. *Amer. Jour. Enol. Vitic.*, 1963, **12**, 25. (5) C. PERI et C. CANTARELLI. *Esame comparativo dell'attività dei detannizzanti proteici e proteico-simili*, en cours de publication dans « *Riv. Vitic. Enol.* ». (6) K. WUCHERPFENNIG, G. BRETTHAUER. *Weinberg u. Keller*, 1962, **9**, 37.

INTERVENTION DE J. BERGERET

Directeur du Laboratoire d'Œnologie, Faculté des Sciences, Dijon (France)

Influence des collages et des filtrages sur la couleur des vins

Malgré la prépondérance donnée de nos jours aux méthodes chimiques d'appréciation des vins, lors des transactions commerciales, l'examen organoleptique joue un rôle déterminant. Il est impensable qu'un œnologue digne de son titre puisse émettre un jugement sur un vin sans l'avoir fait miroiter dans un récipient adéquat, senti et goûté. L'examen visuel nous renseigne sur sa limpidité et sur sa couleur, cette dernière appelée « robe ».

Mon propos se résume à commenter les conséquences des traitements physiques stabilisateurs, tels collages et filtrages, sur la couleur des vins. Dans quelle mesure sont-ils compatibles avec la stabilité toute relative des pigments anthocyanniques qui la composent, stabilité qu'il serait souhaitable d'assurer le plus longtemps possible ? En d'autres termes, la couleur est-elle affectée tant dans son intensité que dans sa nuance par suite d'un contact avec les substances azotées ou minérales appelées à floculer et d'un passage à travers une matière poreuse végétale ou minérale ?

Il n'est pas inutile de rappeler que l'instabilité des anthocyannes au cours de la « vie » du vin est le fait, semble-t-il, de deux types généraux de phénomènes. L'un conduit au « dépouillement » du liquide, c'est-à-dire à la diminution de l'intensité colorante ; une partie importante des pigments précipite. Condensation, déméthoxylation et hydrolyse sont vraisemblablement les réactions qui président à cette insolubilisation. L'autre se traduit par un virage de la couleur, la tonalité évoluant du pourpre vif au rouge sombre mélangé de jaune. Les polyphénols colorés s'oxydent. On peut rattacher ces phénomènes à ceux très complexes et incomplètement étudiés du brunissement enzymatique et non enzymatique qui affectent la plupart des boissons stockées. L'oxygène, la chaleur et les métaux les favorisent. L'œnologue sait élaborer des vins types « rancio » et « tuilé » ; il gagne la nature de vitesse.

Que faut-il penser de l'action des colles à base de gélatine ? L'obtention d'une bonne limpidité n'est pas le seul but recherché par le praticien qui table également sur un assouplissement appréciable, donc sur une diminution de l'astringence due à l'élimination partielle du tanin. A côté de ces polyphénols non colorés, des pigments — chimiquement parlant assez voisins des précédents — provoquent et participent à la floculation de la protéine. Il n'est pas de collage à la gélatine qui n'entraîne un peu de couleur ; les pertes enregistrées sont proportionnelles aux doses de clarifiant mis en œuvre, proportionnalité qui n'est d'ailleurs pas linéaire.

A l'égard de la gélatine, les vins rouges âgés de quelques mois seulement opposent un taux appréciable de tanin « actif » et de pigments instables. A l'aide de l'indice de permanganate, on chiffre grosso modo le pouvoir réducteur de l'ensemble et l'on en déduit les pertes globales découlant du collage. La technique proposée par Nègre a sensiblement la même valeur. A partir de mesures

spectrophotométriques faites aux longueurs d'onde de 420 et 520 millimicrons, on peut chiffrer, conventionnellement, l'intensité colorante et la nuance selon la méthode de SUDRAUD. Effectuées dans le domaine du visible, d'une manière quasi continue, elles permettent de tracer des courbes de densités optiques dont le seul examen se passe de commentaires.

En faisant varier les doses de gélatine de 5 à 30 g par hl, on se rend compte que les pertes de l'intensité colorante, calculées ainsi qu'il vient d'être dit, se situent entre 5 et 10 %. Dans les mêmes vins, la bentonite introduite à des doses de 20 à 120 g par hl entraîne des pertes de couleur variant de 10 à 20 %. La courbe représentative de ces pertes en fonction de la concentration a presque l'allure d'une droite. On peut donc admettre que la bentomite a un pouvoir adsorbant plus important vis-à-vis des pigments que la gélatine. Mais le phénomène se complique lorsqu'on associe les deux colles : la floculation mutuelle n'a pas d'effet de protection de la couleur, bien au contraire.

L'expérience conduite dans les mêmes conditions mais sur des vins rouges âgés de 6 ans, montre que les pigments anthocyanniques sont alors moins facilement entraînés par la bentonite que par la gélatine : pertes de la couleur, de 5 à 10 % avec la bentonite, de 3 à 20 % avec la gélatine, laquelle conserve un grand pouvoir floculant vis-à-vis des polyphénols incolores. L'association des deux est encore plus néfaste à la robe. Quant aux vins rosés non macérés, leurs pigments manifestent un très grand attrait pour la bentonite dont le pouvoir décolorant croît d'une façon spectaculaire en fonction des doses. Lorsqu'on colle un vin rosé de ce type avec 100 g par hl de bentonite, son intensité colorante baisse de 10 % environ.

Le passage d'un vin à travers une matière filtrante constituée par un mélange de fibres de cellulose et d'amiante se traduit par des pertes sensibles de la couleur. Elles sont inversement proportionnelles au débit et proportionnelles au pourcentage de cellulose que renferme la masse filtrante. Là encore, les phénomènes d'adsorption sont prépondérants.

La Bourgogne produisant aussi quelques vins rosés pâles non macérés dont il a été question plus haut, nous nous sommes tout naturellement intéressé au préjudice causé à la couleur — on ne peut guère parler de « robe » dans ce cas — par les opérations de filtration. Ainsi que nous l'avons dit plus haut, ces vins de moins d'un an sont plus « fragiles » que les vins rosés vieux ; or, ce sont les plus agréables à consommer. Bien que nous ne préconisions leur sulfitage, lors de l'embouteillage, qu'en tout dernier ressort et contraints par une nécessité (addition d'acide ascorbique en particulier), il apparaît que l'anhydride sulfureux protège sensiblement la couleur lors de la filtration. A la décoloration passagère des anthocyannes, qui est un phénomène bien connu, succède une recoloration appréciable peu de temps après la sortie du filtre ; par voie de conséquence, le taux d'acide sulfureux diminue. Tous comptes faits, les pertes de la couleur sont relativement moindres que dans le cas des vins non sulfités mais filtrés dans les mêmes conditions.

En conclusion, quels que soient les procédés de stabilisation mis en œuvre — collage ou filtrage — la robe du vin est affectée, toujours dans le sens d'un amenuisement, fort peu quant à la nuance. Par des essais préliminaires conduits au laboratoire, l'œnologue doit s'astreindre à rechercher et préconiser les moyens qui, tout en assurant une bonne limpidité, nuiront le moins possible à la robe, parure inimitable du vin.

Travaux de l'auteur se rapportant au sujet traité :

— Action de la gélatine et de la bentonite sur la couleur et l'astringence de quelques vins. *Ann. Techn. Agr.* 1963, (en cours de publication).
— La robe du vin. *Congrès de l'Union Nationale des Œnologues*, Dijon 1963.
— Conséquences de la filtration sur la couleur et le potentiel d'oxydo-réduction des vins (à paraître).

INTERVENTION DE PASCAL RIBÉREAU-GAYON

Laboratoire d'Œnologie et Chimie Agricole,
Faculté des Sciences, Bordeaux (France)

Evolution des anthocyannes au cours du vieillissement des vins rouges

La matière colorante est sans doute un des constituants les plus importants des vins rouges ; elle intervient en effet sur leur aspect essentiel, sur les caractères gustatifs et son évolution est un acte fondamental du vieillissement. Il serait souhaitable sans doute de savoir maîtriser cette évolution et les divers précipitations qui l'accompagnent ; on serait ainsi beaucoup mieux à même de contrôler la période de vieillissement des vins rouges.

On doit cependant reconnaître que le problème de l'évolution des anthocyannes au cours du vieillissement des vins reste aujourd'hui très obscur ; il ne faut guère s'en étonner puisque la connaissance précise des anthocyannes des raisins, connaissance indispensable pour pouvoir étudier leur évolution, ne date que de quelques années ; on peut penser cependant que cette question fera de grands progrès dans les années qui viennent grâce aux techniques expérimentales de plus en plus précises dont les chercheurs disposent chaque jour.

Le fait apparent essentiel qui traduit l'évolution de la matière colorante pendant le vieillissement du vin est le virage de la coloration du rouge pourpre vers une teinte tuilée. SUDRAUD (1) a montré que cette nuance de la couleur, donc l'état de vieillissement, peut être caractérisée très simplement par le rapport des densités optiques à 420 mμ et à 520 mμ. Bien que l'on ne sache pas interpréter avec précision cette transformation, on sait qu'elle est accompagnée d'une diminution du taux des anthocyannes qui précipitent lentement laissant ainsi apparaître la coloration des autres polyphénols, leucoanthocyannes, et tanins en particulier, qui sont dissimulés par les anthocyannes dans les vins jeunes.

Les différentes transformations chimiques dont le colorant du vin est le siège pendant son vieillissement et qui sont actuellement connues, sont les suivantes :

1° hydrolyse des hétérosides anthocyanniques,

2° condensation suivie d'une précipitation,

3° déméthoxylation.

Hydrolyse des hétérosides anthocyanniques. — On sait que les anthocyannes existent dans le raisin sous forme de glucosides ; plusieurs auteurs (2) ont montré la libération de glucose au cours du vieillissement en fût. L'acidité du vin permet d'expliquer que cette hydrolyse puisse se produire lentement par voie chimique à la température ambiante.

Les aglycones anthocyanniques, ou anthocyanidols, qui apparaissent au cours de cette hydrolyse ne sont sans doute pas stables dans le vin car il n'a pas été possible de les identifier (3). Par contre

dans le cas des pigments jaunes, ou flavonols, nous avons observé le même phénomène d'hydrolyse, mais en outre on voit apparaître dans les vins vieux des aglycones provenant des hétérosides des raisins.

Condensation et précipitation. — La condensation de la matière colorante qui passe progressivement sous forme colloïdale non dialysable a été démontrée depuis longtemps (2) ; lorsque les particules colloïdales sont devenues suffisamment volumineuses elles précipitent. Ces faits sont mis en évidence par l'élimination du colorant colloïdal par dialyse ; dans ce cas le vin soumis au froid n'est plus le siège de précipitations du colorant que l'on observe dans les vins non dialysés.

Nous avons confirmé cette condensation de la matière colorante à l'aide de la chromatographie sur papier (4) ; la chromatographie des colorants d'un vin jeune donne des résultats identiques à ceux obtenus à partir du raisin avec des spots bien définis correspondant à chaque pigment. Lorsque le vin vieillit les spots ont tendance à disparaître et sont remplacés par une traînée brunâtre sur laquelle on n'observe pas de substances chimiquement définies.

Déméthoxylation. — J. Ribéreau-Gayon a montré en 1933 (5) par le dosage chimique que le taux des groupements méthoxyles, $-OCH_3$, dans le colorant du vin, isolé par précipitation, diminue au cours du vieillissement. Ce résultat a encore été confirmé a l'aide de la chromatographie sur papier (6) ; par rapport aux anthocyannes les moins méthoxylées, le taux des anthocyannes les plus méthoxylées diminue au cours du vieillissement. Mais nous ne savons pas dire, dans l'état actuel des connaissances, si ceci correspond à une déméthoxylation des molécules ou à une précipitation préférentielle des anthocyannes les plus méthoxylées.

Les quelques notions que nous avons développées au cours de cette brève note permettront probablement dans les années qui viennent de donner une meilleure interprétation des transformations et des précipitations dont la matière colorante du vin est le siège au cours de son vieillissement ; on peut espérer ainsi arriver à une possibilité de contrôle de la stabilité de cette matière colorante.

Références bibliographiques

(1) P. Sudraud. *Ann. Techn. agric.*, 1958, 7, 203. (2) J. Ribéreau-Gayon et E. Peynaud. *Traité d'Œnologie*, Tome II, Béranger éditeur, Paris 1961. (3) P. Ribéreau-Gayon. *Recherches sur les anthocyannes des végétaux. Application au genre Vitis.* Thèse, sciences physiques, Paris, 1959. (4) J. et P. Ribéreau-Gayon. *Xe Congrès Intern. Industr. agric.*, Madrid, 1954. (5) J. Ribéreau-Gayon. *Contribution à l'étude des oxydations et des réductions dans les vins.* (2e édition). Delmas éditeur, Bordeaux 1933. (6) J. et P. Ribéreau-Gayon. *Amer. J. of Enology*, 1958, 9, 1.

TROUBLES MÉTALLIQUES DES VINS ET LEURS TRAITEMENTS

H. RENTSCHLER

Station fédérale d'Essais expérimentaux pour l'Arboriculture, la Viticulture et l'Horticulture Wädenswil (Suisse)

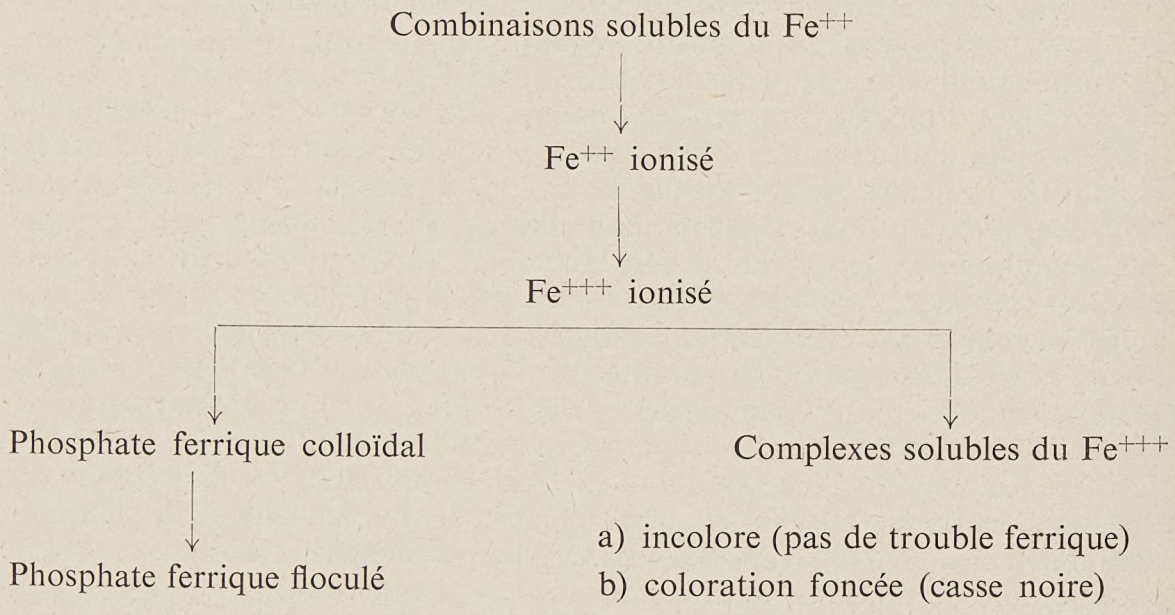
PASTEUR, dont nous rappelons l'œuvre et que nous voulons honorer dans le Symposium actuel, s'est en son temps occupé de manière approfondie des micro-organismes des vins et des modifications qu'ils y provoquent. A cette époque, il n'avait pas encore le motif de s'intéresser aux transformations indésirables dues à des métaux, car de telles manifestations se sont en fait surtout développées de nos jours. En effet, d'un côté, nous nous trouvons devant une mécanisation toujours plus intense de tous les procédés de transformation du raisin et de préparation des vins, ce qui a pour conséquence des contacts toujours plus importants avec les métaux, et d'un autre côté à cause des exigences croissantes des consommateurs, les techniciens sont obligés d'obtenir une stabilité toujours plus grande des vins destinés à la mise en bouteilles. Autrefois, les consommateurs considéraient toujours les dépôts formés dans les bouteilles comme des signes de qualité remarquable. Au contraire le consommateur d'aujourd'hui exige tout naturellement que le vin en bouteilles, même dans des conditions de conservation non favorables, garde absolument sa stabilité biologique et chimique. Aussi actuellement le vin au cours de son évolution est plus que jamais en contact avec les métaux. Le matériel métallique de vinification, comme les fouloirs et les presses, a fait disparaître de plus en plus les installations en bois. On remplace toujours plus fréquemment les fûts en bois, que l'on considérait autrefois comme indispensables, par des récipients en métal avec un revêtement de protection qui n'est pas toujours bien adapté. Le matériel d'application récente, comme les centrifugeuses, les pompes, les installations de mélange, de chauffage et de réfrigération, entraînent des contacts supplémentaires avec les métaux. De plus, on utilise un grand nombre de produits pour le traitement et la conservation du vin, dont la pureté insuffisante peut conduire à des troubles métalliques. Egalement les produits de traitement utilisés pour la protection des raisins dans les vignobles peuvent contribuer à augmenter la teneur des vins en métal. Aussi dois-je faire précéder mon propos du conseil qu'ici encore prévenir est plus simple que de corriger une influence désavantageuse. Le praticien avisé s'efforcera toujours d'empêcher que des métaux indésirables parviennent dans le vin, grâce à un contrôle permanent des machines, des outils, des produits de traitement et de conservation, et surtout de la matière première et du vin obtenu pendant tous les stades de son développement.

Cela étant dit, je voudrais limiter mon entretien aux casses métalliques qui

apparaissent le plus fréquemment. Je renoncerai aux discussions sur le traitement au ferrocyanure de potassium, ainsi que sur les précipitations des sels tartriques et leur traitement, car ces problèmes seront traités par mes collègues TARANTOLA et CANTARELLI. En ce qui concerne les procédés utilisés pour le rétablissement des vins troublés par des métaux, je désire me limiter aux traitements dont l'application peut se justifier. Les produits complexants étrangers au vin, comme l'acide éthylène diamine-tétracétique et les produits semblables, ne seront pas mentionnés ici.

PRÉCIPITATIONS FERRIQUES

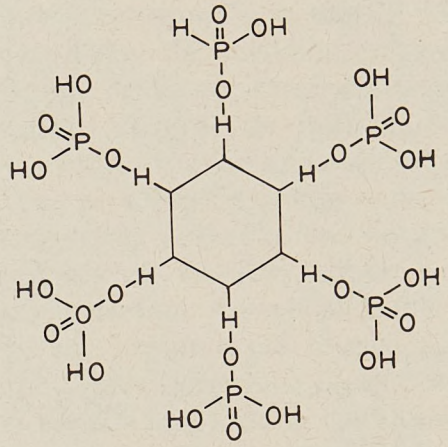
Casse phosphatoferrique ou casse blanche. — Cette casse repose sur la précipitation du phosphate ferrique $Fe(H_2PO_4)_3$ Elle a été très bien étudiée et son apparition dans les vins peut être, en général, considérée comme bien connue. Pour cette raison, je ne veux pas entrer dans les détails sur cette casse et sur son traitement. Toutefois je me permettrai d'indiquer une possibilité de traitement qui, à mon avis, est peu connue et est à peine utilisée dans la pratique. Par des expériences faites à l'étranger et aussi en Suisse, on a pu montrer que les traitements des vins avec des bentonites ou d'autres produits adsorbant les protéines peuvent empêcher l'apparition de la casse blanche. Cela s'explique par le fait que le phosphate ferrique se trouve tout d'abord dans le vin sous forme colloïdale. Avec certaines protéines, le phosphate ferrique forme par la suite une coagulation qui conduit à la casse blanche. Des vins qui ont une teneur en fer élevée et qui ont été traités auparavant à la bentonite restent limpides et brillants, malgré des conditions de stockage analogues (1, 2).



Mécanisme de la casse phosphatoferrique d'après RIBÉREAU-GAYON (1).

Elimination du fer par l'emploi des phytates. — On m'a prié de fournir quelques indications sur l'application des phytates dans le traitement des vins ayant une teneur en fer élevée. On désigne sous le nom de phytates les sels des esters hexaphosphorique et tétraphosphorique de l'inositol. Les produits commerciaux sont le plus souvent disponibles sous forme de sels de calcium.

Le sel ferrique de l'acide phytique paraît être pratiquement insoluble dans le vin. Pour la combinaison avec le fer, il faut une quantité de phytate environ cinq fois plus élevée, calculée d'après le fer à précipiter. Comme seul le fer ferrique forme le préci-



Ester hexaphosphorique de l'inositol d'après ANDERSON (3).

pité insoluble souhaité du phytate de fer, il est conseillé d'aérer intensément les vins à traiter et de les laisser reposer pendant six jours (4).

En nous appuyant sur les expériences réalisées à Geisenheim par HENNIG, nous avons pu obtenir, en Suisse, déjà en 1954, l'autorisation d'emploi des phytates dans le traitement des vins (5). Malheureusement, dans la pratique, les vins traités étaient très souvent sujets à de nouveaux troubles. La cause de ces troubles répétés en bouteilles, qui d'après nos recherches étaient constitués de précipitations supplémentaires de phytate ferrique, était due à une aération insuffisante et à un repos trop bref des vins après collage. Pour la séparation complète du phytate ferrique, le délai de six jours généralement conseillé ne suffit que si les vins traités sont aérés intensément. Or l'aération est une opération que le maître de chai consciencieux n'exécute qu'à contre-cœur. Si l'on renonce à l'aération, il est nécessaire d'augmenter la durée de stockage de deux à trois mois. D'ailleurs il faut considérer que l'acide sulfureux libre contenu la plupart du temps dans les vins empêche également la transformation du Fe^{++} en Fe^{+++}. Les désavantages qui en résultent ont amené à ne plus utiliser, en Suisse, le collage des vins avec le phytate.

Casse tanin-fer ou casse noire. — Ce phénomène, qui se présente dans les vins rouges et dans les vins blancs ayant des teneurs en fer élevées, se reconnaît à la coloration foncée des boissons atteintes. Elle a été désignée autrefois incorrectement comme un trouble de tannate ferrique. Sous le terme de tanins, on désigne dans la langue allemande, les substances astringentes qui sont le plus souvent sous la forme d'esters de l'acide gallique. Ces esters ne sont présents dans les vins en quantités notables que lorsqu'on ajoute du tanin, ce qui peut être le cas pour les vins blancs, dans le but de l'exécution des collages. Généralement les partenaires pour la formation de la casse noire sont des tanins condensés, ou bien des combinaisons tanniques de même famille. On peut admettre que la coloration foncée des vins résulte de la formation de combinaisons leucoanthocyannes — Fe^{+++}. Les leucoanthocyannes se forment,

de leur côté, à partir de la molécule de base du leucocyanidol par polymérisation conformément à la formule suivante (6) :

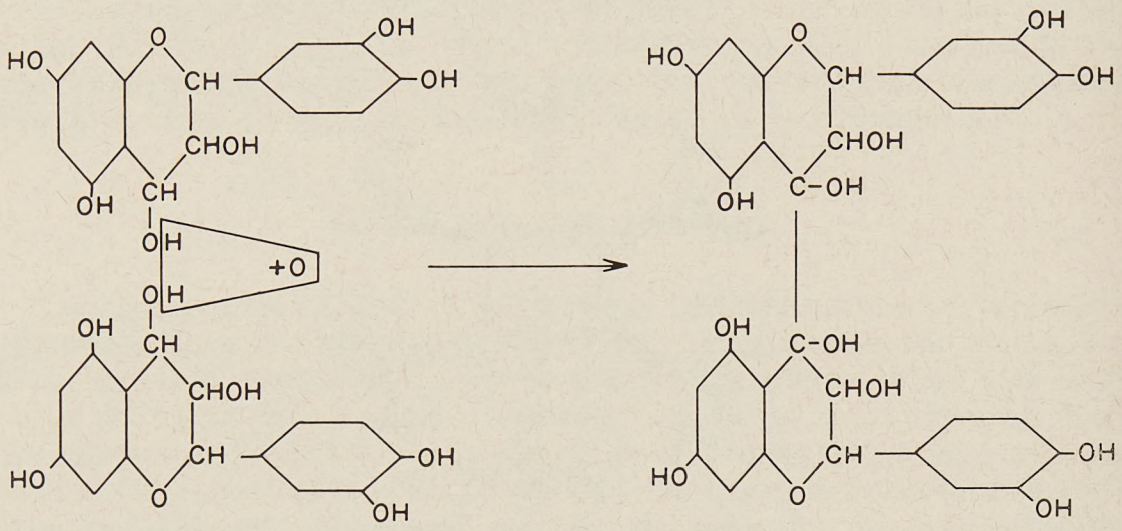


Schéma d'une polymérisation du leucocyanidol en leucoanthocyannes d'après BATE-SMITH et SWAIN (6).

PRÉCIPITATIONS CUIVRIQUES

Généralités. — Il existe peu de données exactes sur la nature des précipitations cuivriques, qui apparaissent dans des vins ayant des teneurs élevées en cuivre. Ainsi THOUKIS et AMERINE (7) indiquent que la constitution des précipités de casse cuivrique est encore mal éclaircie et qu'on ne sait pas si en fait il existe des casses cuivriques différentes. Nous voudrions d'abord, avant notre exposé sur ce sujet, préciser que nous n'avons jusqu'à présent jamais eu l'occasion de constater la précipitation de sulfure de cuivre (CuS) décrite par d'autres chercheurs. En nous basant sur nos expériences faites jusqu'à maintenant, nous différencions les casses cuivriques de la manière suivante.

Précipitation de cuprosulfite. — En 1957, nous avons décrit la caractérisation de la précipitation de cuprosulfite, un produit de la réaction du cuivre monovalent avec l'acide sulfureux (9). Des vins avec une teneur en cuivre élevée (plus de 2 mg par litre environ) peuvent être atteints de cette casse s'ils possèdent en même temps plus de 100 mg par litre environ d'acide sulfureux total. Comme produit de la réaction, il se forme un trouble, puis un dépôt de couleur brun rouge, constitué de cuprosulfite.

Pour le traitement de tels vins, les mêmes procédés que pour les casses ferriques sont applicables. Au contraire des casses ferriques, la casse cuprosulfitique est augmentée à la lumière solaire à la suite d'une réduction photochimique du Cu^{++} en Cu^{+} ; en sens inverse, elle peut disparaître par aération. Dans ce cas un traitement à la bentonite est bien entendu inefficace, puisque les protéines n'influencent pas le trouble.

Précipitation cuivre-protéine. — En 1953, une série de travaux ont été publiés sur les casses cuivriques et leur traitement par JOSLYN, LUKTON et collaborateurs (10). Dans les dépôts qu'ils observaient, ces chercheurs ont pu démontrer la présence de soufre, de protéines et de cuivre.

En accord avec RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD (11), ils considèrent les amino-acides contenant du soufre comme partenaires du cuivre à l'état cuivrique (bivalent) et comme responsables de l'apparition des troubles. Il est donc compréhensible qu'un traitement des vins avec des bentonites, qui enlèvent les protéines, puisse conduire à des boissons stables.

Précipitation cuivre-leucoanthocyannes. — A propos des casses ferriques, j'ai démontré le rôle des tanins, c'est-à-dire des leucoanthocyannes, dans l'apparition de la casse noire. La démonstration de la combinaison correspondante cuivre-leucoanthocyannes dans les vins n'a pas été apportée de manière sûre jusqu'à aujourd'hui, quoiqu'il n'y a presque plus de doutes sur son apparition, surtout dans les vins riches en tanin. Par contre, nous avons réussi à démontrer dans les jus de fruits la réaction cuivre-leucoanthocyannes mentionnée (12). Ce trouble présente une couleur allant du brun au brun rouge et disparaît très vite à la lumière solaire, à la différence de la casse cuprosulfitique. La caractérisation des constituants purifiés des leucoanthocyannes par chromatographie sur papier a été réussie par leur transformation en cyanidine (aglucone du colorant anthocyannique, la cyanine), par chauffage avec de l'acide chlorhydrique dilué et identification de la cyanidine à nouveau par chromatographie sur papier. Pour la guérison des vins atteints de cette casse, le traitement au ferrocyanure suivi d'un collage à la gélatine est le moyen le plus sûr.

AUTRES CASSES MÉTALLIQUES

Précipitations dues à l'aluminium. — Les troubles dus à l'aluminium ont été décrits dernièrement d'une manière détaillée par RANKINE (13). A côté de l'apparition d'un goût métallique avec formation simultanée d'hydrogène sulfuré, l'auteur a pu constater un trouble colloïdal. Son observation, selon laquelle la teneur en aluminium des vins traités à la bentonite (silicate d'aluminium) augmenterait de 1 à 2 mg par litre, en particulier dans les vins ayant une acidité élevée, est intéressante. Le trouble qui apparaît en ces circonstances est reconnaissable à une légère opalescence ou à un précipité de couleur non décrite. En ce qui concerne le traitement de telles boissons, il est à mentionner que l'aluminium peut être en principe précipité par le collage au ferrocyanure de potassium. On devra considérer que la précipitation du ferrocyanure d'aluminium exige un temps nettement plus long que dans le cas de la précipitation des complexes du fer ou du cuivre. Par contre la précipitation s'effectue réellement plus vite si les boissons à coller sont chauffées après l'addition de ferrocyanure de potassium.

Précipitations dues à l'étain. — Il y a quelques années, KIELHÖFER et AUMANN ont étudié les précipitations dues aux sels d'étain pouvant apparaître dans les vins (14). Les vins peuvent dissoudre des quantités considérables d'étain. Les troubles qui y apparaissent ont pu être identifiés par les auteurs ci-dessus comme des troubles étain-protéines. Des teneurs élevées en acide sulfureux libre renforcent l'apparition du trouble ; l'étain est oxydé et il y a réduction simultanée de l'acide sulfureux en hydrogène sulfuré. KIELHÖFER et AUMANN ont pu démontrer aussi en même temps la présence de soufre élémentaire dans le précipité étain-protéines. Il existe une analogie avec la casse cuivre-protéines discutée plus haut. Comme traitement, le collage à la bentonite pourrait être le procédé le plus approprié.

Il doit être mentionné ici que LEBRETON et collaborateurs (15) ont démontré l'existence de précipitations étain-protéines et également étain-leucoanthocyannes

dans la bière. Les constituants des leucoanthocyannes ont été identifiés par les chercheurs ci-dessus, selon le procédé que nous avons décrit plus haut (voir la précipitation cuivre-leucoanthocyannes) ; ils ont découvert comme éléments déterminants de la casse étain-protéines : l'acide γ-aminobutyrique et l'hydroxylysine.

Je n'étudierai pas aujourd'hui d'autres casses métalliques qui n'apparaissent que rarement et dans les vins traités inconsidérément.

En conclusion, je voudrais répéter encore une fois avec insistance le principe mentionné au début, selon lequel prévenir est considérablement plus simple que rétablir. Efforçons-nous pour cela, par le choix soigneux et l'entretien de tous les matériaux en contact avec les vins, d'éviter les casses métalliques et ainsi nous épargnerons des traitements pénibles et coûteux pour les supprimer.

Références bibliographiques

(1) C.E. Kean et G.L. Marsh. *Food Technology*, 1956, **10**, 355. (2) J. Ribéreau-Gayon et E. Peynaud. *Traité d'Œnologie*. T. II, 1961, p. 323. (3) *Ibid*, p. 917. (4) *Ibid*, p. 908. (5) H. Rentschler. *Schweiz. Zeits. Obst. Weinbau*, 1954, **63**, 327. (6) J. Ribéreau-Gayon et E. Peynaud. *Traité d'Œnologie*. T. II, 1961, p. 548 ; E.C. Bate-Smith et T. Swain. *Chemistry and Industry*, 1953, **377**, 378. (7) G. Thoukis et M.A. Amerine. *Journ. Enology*, 1956, **7**, 62. (8) Voir p. exemple J. Ribéreau-Gayon et E. Peynaud, *Traité d'Œnologie*. T. II, 1961, 341. (9) H. Rentschler et H. Tanner, *Schweiz. Zeits. Obst. Weinbau*, 1960, **60**, 368. (10) M.A. Joslyn, A. Lukton et A. Cane, *Food. Technology*, 1953, **7**, 20.

(11) J. Ribéreau-Gayon et E. Peynaud. *Traité d'Œnologie*. T. II, 1961, p. 341. (12) H. Rentschler et H. Tanner. *Schweiz. Zeits. Obst. Weinbau*, 1960, **69**, 368. (13) B.C. Rankine. *Austr. Wine Brewing Spirit Rev.* 1962, 9180, 14. (14) E. Kielhöfer et H. Aumann. *Mitteilungen*, 1955, **5**, 127. (15) P.A. Lebreton, B.J. Gagnaire et G.F. Michel. *Wallerstein Labor. Com.* 1957, **20**, n° 70, 233.

Résumé

Il est souligné, en avant-propos, que les nombreuses causes responsables de l'apparition, toujours plus fréquente dans ces derniers temps, des métaux et des troubles métalliques dans les vins résident dans l'utilisation toujours de plus en plus grande de machines et d'outils en métal et dans l'addition de produits d'une pureté insuffisante. Pour empêcher dans la mesure du possible des louchissements gênants, il est conseillé en particulier de contrôler périodiquement les teneurs des vins en fer et en cuivre au cours de la conservation. De tels contrôles permettent d'arrêter à temps les influences indésirables et de prendre au bon moment les mesures nécessaires dans les manipulations des caves, dans le but d'empêcher les casses métalliques ultérieures. Le rapporteur décrit individuellement chaque précipitation métallique.

I. Précipitations ferriques

1 — *Précipitation phosphatoferrique ou casse blanche.* Le fer dissous à l'état de phosphate ferrique colloïdal Fe $(H_2PO_4)_3$ floculе d'abord avec les protéines du vin. Un traitement préventif encore peu connu consiste dans l'élimination de ces protéines, par exemple par collage à la bentonite, de telle façon que la floculation du phosphate ferrique est empêchée.

2 — Précipitation tanin-fer. Il est montré à ce sujet que les constituants polyphénoliques qui participent à cette précipitation ne se trouvent pas sous forme de tanins catéchiques ou pyrogalliques, mais plus vraisemblablement sous forme de leucoanthocyannes condensées.

II. Précipitations cuivriques

On peut différencier les précipitations cuivriques suivantes :

1 — *Précipitation cuprosulfitique*, provoquée par une teneur élevée du vin en cuivre en liaison avec une teneur en acide sulfureux total supérieure à 100 mg par litre.

2 — *Précipitation protéines-cuivre*, qui se ramène à une association de cuivre d'une part et d'un aminoacide sulfuré d'autre part.

3 — *Précipitation leucoanthocyanne-cuivre*, qui a été démontrée par le rapporteur jusqu'à présent seulement dans les jus de fruits et non dans les vins, mais dont la formation y est vraisemblable.

Parmi les autres précipitations métalliques, il est fait mention de celles dues à l'aluminium et à l'étain.

Il vaut mieux prévenir que guérir. Le rapporteur conseille d'avoir recours à temps aux mesures ayant pour but de protéger le vin du contact des métaux et des troubles métalliques ultérieurs. Les vins qui ont une teneur élevée en métal peuvent être stabilisés sûrement par précipitation du métal gênant. Dans quelques cas, la stabilisation des substances du trouble peut s'obtenir avec succès sans précipitation préalable du métal intéressé.

METALLIC TURBIDITIES IN WINE AND THEIR TREATMENT

H. RENTSCHLER

Summary

It is pointed out, by way of introduction, that the many reasons why metals and metallic turbidities have lately appeared more and more frequently in wines are to be found in the ever increasing use of tools and machines made of metal and in the addition of insufficiently pure products. In order to prevent troublesome turbidities as much as one possibly can, it is particularly advisable to check the iron and copper contents periodically during wine preservation. With such checkings, undesirable influences can be stopped in time and the necessary measures can be taken at the right moment as far as manipulation in cellars are concerned, with a view to preventing further metallic casses. The reporter describes each individual metallic precipitation.

I. Ferric precipitations

1. *Phosphatoferric precipitation or white casse.* Iron dissolved in the form of colloidal ferric phosphate, Fe $(H_2 PO_4)_3$, floculates with the proteins of wine. There is a preventive treatment, not very well known as yet, which consists in eliminating those proteins, for instance, by fining down with bentonite, in such a way that ferric phosphate floculation does not occur.

2. *Tannin-iron precipitation.* With regard to this, it is explained that the polyphenolic components which take part in this precipitation do not take the form of catechic or pyrogallic tannins but more likely that of condensed leucoanthocyanins.

II. Copper precipitations

The different copper precipitations are as follows :

1. *Cuprosulfite precipitation*, brought about by a high copper content in wine in connection with a total sulfur dioxide content of over 100 p.p.m.

2. *Protein-copper precipitation*, amounting to an association of copper on the one hand and of sulphide aminoacid on the other hand.

3. *Leucoanthocyannin-copper precipitation*, which has been so far proved by the reporter in fruit juice only and not in wines but which is likely to take place in these.

Among the other metallic precipitations, those due to aluminium and tin are mentioned.

Prevention is better than cure. The reporter advises to take in time the necessary measures aiming to protect wine from contact with metals and from further metallic turbidity. Wines with a high-metallic content can be securely stabilized by means of a precipitation of the troublesome metal. In some instances stabilization of the matters causing turbidity can be successfully carried out without previous precipitation of the metal.

METALLTRÜBUNGEN VON WEINEN UND IHRE BEHANDLUNG

H. RENTSCHLER

Zusammenfassung

Einleitend wird auf die zahlreichen Ursachen hingewiesen, welche neuerdings für das verstärkte Auftreten von Metallen in Weinen und von Metalltrübungen verantwortlich sind : In immer grösserem Ausmass werden metallene Maschinen und Geräte verwendet und Hilfsstoffe von ungenügender Reinheit eingesetzt. Um durch Metalle verursachte lästige Nachtrübungen nach Möglichkeit zu verhindern, wird empfohlen, insbesondere die Gehalte der Weine an Eisen und Kupfer im Verlauf der Lagerung periodisch zu kontrollieren. Solche Kontrollen ermöglichen die Frühzeitige Ausschaltung unerwünschter Einflüsse und die rechtzeitige Einleitung der erforderlichen Kellerbehandlungen, zwecks Vermeidung späterer Mettaltrübungen. Von den einzelnen Mettaltrübungen werden vom Verfasser beschrieben :

A. Eisentrübungen

1. *Ferriphosphat-Trübung oder Weisser Bruch*

Im Wein vorerst als Fe (H_2 PO_4) 3 kolloidal gelöstes Eisen bildet mit Wein-Proteinen ein Koagulat. Eine noch wenig bekannte Gegenmassnahme besteht in der Entfernung jener Proteine, z. B. durch Bentonitbehandlung, wodurch die Koagulation des Fe (H_2 PO_4) 3 verhindert wird.

2. *Eisen-Gerbstoff-Trübung*

Es wird darauf hingewiesen, dass die an dieser Trübung beteiligte Gerbstoff-Komponente nicht in Form des esterartigen Gerbstoffes Tannin, sondern höchst wahrscheinlich in Form des kondensierten Gerbstoffes Leucoanthozyan vorliegt.

B. Kupfer-Trübungen

Es werden folgende Kupfer-Trübungen unterschieden :

1. *Cuprosulfit-Trübung*, verursacht durch einen erhöhten Kupfergehalt des Weines in Verbindung mit einem Gehalt des letzteren von mehr als 100 mg/l gesamter schwefliger Säure.

2. *Kupfer- Eiweiss-Trübung*, zurückzuführen auf das Zusammentreten von Kupfer einerseits und einer schwefelhaltigen Aminocarbonsäure anderseits.

3. *Kupfer-Leucoanthozyan-Trübung*, welche vom Berichterstatter bisher nur in *Kernobstsäften*, nicht aber in Weinen, nachgewiesen worden ist, deren Auftreten in Weinen aber wahrscheinlich ist.

An weiteren Metalltrübungen werden jene des Aluminiums und des Zinns erwähnt. — Vorbeugen ist bekanntlich einfacher als Wiederherstellen. Der Referent empfiehlt daher, rechtzeitig alle jene Massnahmen zu ergreifen, welche den Schutz der Weine vor Metallberührungen und damit vor späteren Metalltrübungen zum Ziel haben. — Weine mit bereits erhöhten Metallgehalten lassen sich mit Sicherheit durch rechtzeitige Ausfällung der störenden Metalle wiederherstellen. In eineigen Fällen ist auch die *Stabilisierung* jener Trübungsstoffe im Wein, ohne vorhergehende Ausfällung der beteiligten Metalle, erfolgreich.

INTORBIDAMENTI METALLICI DEI VINI E LORO TRATTAMENTO

H. RENTSCHLER

Riassunto

Nella prefazione si mette in rilievo che le numerose cause, responsabili dell'apparizione, sempre più frequente in questi ultimi tempi, dei metalli e degli intorbidamenti metallici nei vini, risiedono nell'utilizzazione, di giorno in giorno sempre più grande, di macchinari ed attrezzi in metallo, e nell'addizione di prodotti d'una purezza insufficiente. Per impedire, nella misura del possibile, gli intorbidamenti incomodi, si consiglia in particolare di controllare, periodicamente, il tenore dei vini in ferro ed in rame, nel corso della loro conservazione.

Questi controlli permettono d'arrestare per tempo le influenze indesiderabili, e di prendere a tempo opportuno, durante le normali operazioni di cantina, le misure necessarie, al fine di impedire le rotture metalliche che ne conseguireberro. Il relatore descrive ad una ad una le varie precipitazioni metalliche.

I. Precipitazioni ferriche

1 — *Precipitazione fosfato ferrica, o rottura bianca* : Il ferro, in soluzione allo stato di fosfato ferrico colloidale Fe $(H_2PO_4)_3$, floccula anzitutto con le proteine del vino. Un trattamento preventivo ancora poco conosciuto consiste nell'eliminazione di queste proteine, ad esempio per collatura con la bentonite ; in tal modo si impedisce la flocculazione del fosfato ferrico.

2 — *Precipitazione tannico-ferrica.* Si dimostra a questo proposito che costituenti polifenolici, che partecipano a queste precipitazione, non si trovano sotto forma di tannini catechici o pirogallici, ma più verosimilmente sotto forma di leucoantociani condensati.

II — Precipitazioni rameose : Possono essere cosi diffenziate :

1 — *Precipitazione cuprosolfitica*, provocata da un alto tenore del vino in rame, in unione ad un tenore in acido solforoso totale superiore a 100 mg/l.

2 — *Precipitazione proteine-rame*, che si riconduce ad una associazione del rame con un amino-acido solforato.

3 — *Precipitazione leucoantociani-rame*, riscontrata dal relatore, per il momento, solo nei succhi di frutta e non nei vini, nei quali peró, con tutta probabilita puó formarsi.

Per quanto riguarda le altre precipitazioni metalliche, si ricordano quelle dovute all'alluminio ed allo stagno.

E meglio prevenire che guarire.

Il relatore consiglia di ricorrere per tempo a delle misure preventive aventi per fine la protezione del vino da tutti i contatti con i metalli e dagli intorbidamenti che ne conseguirebbero.

I vini che hanno un alto tenore in metalli possono essere stabilizzati con sicurezza per precipitazione dei metalli incomodi. In qualche caso la stabilizzazione delle sostanze che provocano l'intorbidamento si puó ottenere con successo, senza dover precipitare il metallo in questione.

ENTURBIAMIENTOS METALICOS DE LOS VINOS Y SU TRATAMIENTO

H. RENTSCHLER

Resumen

Se ha subrayado, en introducción, que las numerosas causas responsables de la aparición, siempre más frecuente en este último tiempo, de los metales y de los enturbiamientos metálicos en los vinos reside en la utilización siempre en aumento, de máquinas e instrumentos de metal, y en la adición de productos de una pureza insuficiente. Para impedir lo más posible los enturbiamientos molestos, se aconseja sobre todo controlar periodicamente los contenidos de los vinos en hierro y en cobre durante la conservación. Tales controles permiten detener a tiempo los influencias indeseables, y tomar a tiempo las medidas necesarias en las manipulaciones de las bodegas, con el fin de impedir las quiebras metálicas posteriores. El ponente describe individualmente cada precipitación metálica.

I. Precipitaciones ferricas

1 — *Precipitación fosfato férrica o quiebra blanca* :

El hierro disuelto al estado de fosfato férrico coloidal Fe $(H_2 PO_4)_3$ flocula primeramente con las proteinas del vino. Un tratamiento preventivo todavia poco conocido, consiste en la eliminación

de esas proteinas, por ejemplo por encolado a la bentonita, de modo que la floculación del fosfato férrico sea impedida.

2 — *Precipitación tanino-hierro* : Se ha demostrado a este respecto que los componentes polifenólicos que participan en esta precipitación no se encuentran bajo la forma de taninos derivados de la catequina o de taninos pirogálicos, sino que más ciertamente bajo la forma de leucoantocianos condensados.

II. Precipitaciones cupricas

Se pueden distinguir los precipitaciones cúpricas siguientes :

1 — *Precipitación cupro-sulfitica*, provocada por un contenido elevado de cobre en el vino, en relación con un contenido en acido sulfuroso total superior a 100 mg por litro.

2 — *Precipitación proteinas-cobre*, que se reduce a una asociación de cobre por una parte y de un aminoacido sulfurado por otra.

3 — *Precipitación leucoantociano-cobre*, que ha sido demostrada por el ponente solo en los jugos de frutas por el momento y no en los vinos, pero cuya formación en los vinos es segura.

Entre los otras precipitaciones metálicas, se ha hecho mención de aquellas debidas al aluminio y al estaño.

Vale más prevenir que curar. El ponente aconseja recurrir a tiempo a las medidas que tienen por objeto proteger el vino del contacto de los metales y de las turbideces metálicas posteriores. Los vinos que tienen un contenido elevado de metal, pueden ser estabilizados con seguridad, por precipitatión del metal que interfiere. En algunos casos, la estabilización de las substancias de la turbidez puede obtenerse con éxito, sin précipitatión previa del metal del que se trata.

INTERVENTION DE R. CORDONNIER

Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Montpellier (France)

Elimination du fer des vins par le phytate de calcium

C'est à la suite des travaux de COHEE et STEFFEN (1) sur l'élimination du fer et du cuivre dans les vinaigres par les phytates de calcium et de sodium que nous avons étudié, sous la direction du Professeur NÈGRE, les possibilités d'utilisation de l'un de ces sels en œnologie. Cette étude a fait l'objet en 1952 d'un compte rendu à l'Académie d'Agriculture et d'une publication dans les *Annales des Falsifications et des Fraudes* (2) (3). Dans le même temps, HENNIG, en Allemagne, poursuivait des travaux sur le même sujet (4).

Des recherches préliminaires réalisées sur solutions synthétiques de fer à l'état ferrique et à l'état ferreux ont mis en évidence les deux points suivants : 4 à 5 mg de phytate de calcium sont nécessaires pour précipiter 1 mg de fer ; seul, le fer ferrique est précipité.

Ces constatations sont importantes du point de vue pratique, car elles fixent les limites de réactif à ne pas dépasser et mettent en évidence, d'une part l'intérêt de l'aération des vins pour une efficacité maximale du traitement et d'autre part les dangers d'un excès de phytate de calcium dans le vin traité du point de vue de sa stabilité. Il suffit en effet d'ajouter quelques gouttes d'eau oxygénée à la solution ferreuse contenant du phytate pour réaliser la précipitation du fer sous forme de phytate ferrique.

Ces premières conclusions se sont trouvées confirmées par une série d'expérimentations sur vins, traités avec et sans aération par des quantités variables de phytate de calcium. Dans tous les cas l'élimination du fer est plus poussée dans les vins aérés et aussi plus rapide. Mais il arrive que les vins traités contiennent du phytate bien que tout le fer n'ait pas précipité. Un essai de tenue à l'air ou une addition de fer ferrique permet de s'en rendre compte.

Pour éviter les dangers d'un surcollage, il convient donc :

a) de déterminer la dose de phytate précipitable au moyen d'un essai préalable analogue à celui réalisé dans le collage bleu ;

b) d'aérer le vin. Sans ces précautions, le coupage d'un vin traité avec un autre vin peut entraîner une casse « phytatoferrique ».

Du point de vue pratique, le collage au phytate de calcium s'est révélé aussi efficace, dans le cas des vins testés, que le collage bleu si l'on s'en tient aux doses de ferrocyanure de potassium assurant la marge de sécurité requise. Les qualités organoleptiques des vins traités, fruité et fraicheur en particulier, ne sont pas modifiées. Le phytate ne précipite cependant pas le cuivre.

Différents chercheurs français se sont également intéressés au problème de l'utilisation du

phytate de calcium en œnologie. DUPUY et BOUZIGUES ont proposé un procédé d'élimination du fer par le son du blé ; ils ont souligné aussi l'intérêt de l'essai préalable (5).

La précipitation du seul fer ferrique, l'influence de l'aération dans l'efficacité du traitement et les inconvénients d'un excès de phytate ont été confirmés par les travaux de RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD (6) et de ROUBERT (7). Ces auteurs ont en outre constaté que quelle que soit la dose de phytate utilisée, il en reste toujours un excès dans le vin traité.

C'est qu'en effet, le fer ferrique se trouve en compétition entre certains anions, organiques essentiellement, du vin et l'agent précipitant : l'efficacité du traitement est conditionnée par le pouvoir complexant du vin. Dans les vins riches en anions complexants, l'élimination du fer ferrique, masqué en partie à ses réactifs, peut être ou très limitée ou très progressive, ce qui augmente les chances de la présence d'un excès de produit dans le vin traité. Dans ce cas, le phytate de calcium dont l'innocuité n'est pas discutée, n'offre pas les inconvénients du ferrocyanure de potassium.

En définitive, les phytates offrent un réel intérêt en œnologie, en tant qu'agent déferrant, à condition d'en déterminer au plus juste la dose nécessaire et de les introduire dans des vins aussi aérés que possible.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(1) R.F. COHEE et G. STEFFEN. *Food Industr.* 1949, **21**, 1746 et 1895. (2) E. NÈGRE et R. CORDONNIER *C.R. Acad. Agr.*, 1952, **39**, 346. (3) R. CORDONNIER. *Ann. Fals. Fraudes*, 1952, **48**, 415. (4) F. HENNIG *Deutsche Wein — Zeitung*, 1952, **88**, 226. (5) P. DUPUY et H. BOUZIGUES. *C.R. Acad. Agr.*, 1953, **39**, 298. (6) J. RIBÉREAU-GAYON et E. PEYNAUD. *Ind. Agric. Alim.* 1953, **76**, 129. (7) J. ROUBERT. Communication personnelle.

TRAITEMENT DES VINS PAR LE FERROCYANURE DE POTASSIUM

C. TARANTOLA

Directeur de la Station Œnologique expérimentale, Asti (Italie)

L'emploi du ferrocyanure de potassium comme moyen pour éliminer des vins les métaux qui peuvent causer des troubles, en particulier le fer, a été proposé par MÖSLINGER en 1922. Ce traitement, admis légalement l'année suivante en Allemagne, fut successivement autorisé dans de nombreux pays, petits et moyens producteurs de vin. Dans les pays plus vinicoles au contraire, le « collage bleu », bien que connu comme moyen efficace et sûr pour la prévention de troubles d'origine métallique, a provoqué des doutes et des perplexités, dictés plus particulièrement par des considérations de caractère hygiénique et sanitaire. C'est pour ces raisons que seulement récemment la France, après une période assez longue d'autorisation temporaire à titre d'essai, a rendu légal l'emploi du ferrocyanure de potassium, avec les rigoureux contrôles nécessaires, alors que l'Italie, l'Espagne et le Portugal, comme la Roumanie, la Turquie et la Tunisie, considèrent encore ce traitement comme illégal.

Nous envisagerons ici le processus de démétallisation des vins au moyen du ferrocyanure de potassium, d'abord sous son aspect chimique, ensuite sous son aspect œnologique ; pour conclure enfin par quelques considérations de caractère hygiénique et toxicologique, ce qui est l'aspect le plus discuté du problème.

On sait que le ferrocyanure de potassium, ajouté aux vins en quantité strictement nécessaire, se combine avec quelques-uns des métaux lourds éventuellement présents, à savoir le fer, le cuivre, le zinc et le manganèse et les précipite sous forme de ferrocyanures insolubles.

On obtient de cette façon l'élimination de ces métaux, fer et cuivre, qui peuvent nuire à la limpidité du vin et être la cause de précipitations.

Le processus, considéré sous l'aspect chimique, est complexe non seulement parce que les formes de combinaison auxquelles peut donner lieu le fer avec le ferrocyanure de potassium sont diverses, mais parce que sur les réactions interfèrent aussi, soit d'autres composants du vin, soit quelques-unes des opérations normales de chai.

En fait, tandis que le cuivre, réagissant avec le ferrocyanure de potassium, précipite en Cu_2 [$(Fe(CN)_6$] brun rougeâtre, et que le zinc précipite en Zn_2 [$Fe(CN)_6$] blanc, le fer, qui dans le vin peut se trouver aussi bien à l'état ferrique que ferreux, est insolubilisé par le ferrocyanure sous trois formes de combinaison, qui sont :

— le Fe^{II} en $K_2Fe\,[Fe\,(CN)_6]$, ou bien en $Fe_2\,[Fe\,(CN)_6]$, sels tous deux de couleur blanche ; en général, il existe un mélange de ces deux sels ;

— le Fe^{III} en$Fe_4\,[Fe\,(CN)_6]_3$, ou ferrocyanure ferrique, encore appelé « bleu de Prusse ».

La combinaison du Fe^{II} avec le ferrocyanure de potassium ne se fait donc pas dans un rapport donné entre les substances réagissantes, en puisque les réactions qui donnent naissance aux composés ferreux sont au nombre de deux ; ces réactions toutefois se déroulent assez rapidement : la précipitation du Fe^{II} est complète et presque instantanée.

Ce même comportement ne se vérifie pas avec le Fe^{III}, dont la combinaison avec le ferrocyanure est relativement lente, à plus forte raison lorsque les solutions des ions qui réagissent entre eux sont moins concentrées.

Il faut en outre ajouter que, contrairement à tout ce que l'on estimait auparavant, le ferrocyanure ferrique n'a pas une composition définie. Selon DAVIDSON, le précipité bleu qui se forme en mettant en présence les ions Fe^{+++} et $[Fe\,(CN)_6]\ldots$ serait constitué par un mélange de ferrocyanure ferrique (bleu de Prusse) et de ferricyanure ferreux (bleu de Turnbull). Ce dernier composé dériverait d'un processus d'oxydo-réduction, pouvant être représenté ainsi :

$$Fe^{+++} + [Fe\,(CN)_6]^{---} \rightleftharpoons Fe^{++} + [Fe\,(CN)_6]^{---}$$

et au moyen duquel les ions ferriques seraient en grande partie réduits à l'état ferreux par les ions ferrocyanhydriques, qui simultanément s'oxyderaient en ions ferricyanhydriques.

D'autres hypothèses sur la constitution des ferrocyanures de fer ont été avancées, mais il ne s'agit pas ici de nous étendre plus longuement ; ce qu'il faut avoir présent à l'esprit, c'est le fait qu'en solution aqueuse très diluée, la réaction entre le Fe^{III} et le ferrocyanure n'est pas instantanée. Dans le vin, le déroulement de la même réaction est ultérieurement ralenti par le fait, mis en lumière par RIBÉREAU-GAYON (1) et par SALVAREZZA (2), que le fer à l'état trivalent se trouve pour une bonne part lié aux anions des hydroxyacides sous forme de complexes. Autrement dit, des anions organo-métalliques prennent naissance, d'autant plus stables que le pH du vin est plus élevé. Par conséquent le ferrocyanure de potassium ajouté au vin réagira instantanément avec tout le fer bivalent, en partie lié aux acides organiques, mais sous forme de complexes peu stables ; le ferrocyanure réagira en outre avec le fer trivalent non complexé, c'est-à-dire à l'état d'ion Fe^{+++}, et ensuite plus lentement avec le Fe^{III} qui peu à peu se libérera, en vertu de la loi d'action de masses, par dissociation des complexes ferro-organiques.

On explique de cette façon le fait que le fer présent dans le vin à l'état trivalent soit précipité par le ferrocyanure graduellement, et d'autant plus lentement que l'acidité du vin est plus basse. Ainsi il peut arriver que dans les vins peu acides, ou en partie désacidifiés, ou provenant de raisins botrytisés, la précipitation complète du fer par le ferrocyanure de potassium demande plusieurs heures, parfois plusieurs jours ; dans certains cas au contraire, seule une petite partie du fer initialement présent dans le vin est précipitée par le ferrocyanure, même si celui-ci est ajouté en excès. On peut alors y remédier ou bien en augmentant l'acidité du vin si elle est faible, ou bien en conservant le vin pendant 15 à 20 jours en cuve de ciment, à l'abri de l'air ; dans ces conditions, le fer trivalent passera en grande partie à l'état bivalent et sera précipité sous cette forme par le ferrocyanure, rapidement et d'une façon complète.

D'autre part, tandis que les produits de la réaction entre le Fe^{II} et le ferrocyanure constituent les véritables précipités insolubles, le ferrocyanure ferrique qui se forme à partir du Fe^{III} a un caractère colloïdal, et c'est pour cette raison qu'il se trouve initialement dans le vin à l'état dispersé. Pour que sa séparation du vin soit possible, par filtration ou par centrifugation, il est nécessaire que se produise au préalable la floculation du ferrocyanure ferrique à la suite du grossissement des micelles colloïdales, soit au moyen des cations des sels dissous, soit au moyen des colloïdes de signe opposé qui se trouvent dans le vin. Une telle floculation a lieu rapidement dans les vins riches en protéines, mais la présence de colloïdes protecteurs, comme les pectines et les substances mucilagineuses, peut ralentir plus ou moins sensiblement la séparation du gel colloïdal de la phase liquide. C'est pour cette raison que les modes d'exécution, adoptés par les pays qui autorisent ce traitement, prescrivent l'addition au vin, après la solution aqueuse de ferrocyanure de potassium, d'un clarifiant protéique, gélatine ou colle de poisson, dans le but de favoriser et d'accélérer, par floculation réciproque, la coagulation et la sédimentation du ferrocyanure ferrique.

Il est évident, d'après les conditions qui viennent d'être exposées, que le calcul de la quantité de ferrocyanure requise pour le déferrage d'un vin, ne peut se baser sur la détermination préalable du fer total présent : une telle détermination sera sans valeur soit parce que d'autres métaux que le fer réagissent avec le ferrocyanure, soit parce que l'état du fer bivalent ou trivalent influe sur les rapports de combinaison. D'autre part, la détermination des deux formes, ferreuse et ferrique, ne pourrait pas non plus résoudre le problème, car le rapport Fe^{II}/Fe^{III} subit l'influence de divers facteurs qui peuvent échapper au contrôle du technicien. De plus, une partie du fer complexé avec les anions des acides organiques peut échapper, dans certains vins, à l'action précipitante du ferrocyanure de potassium, ou du moins précipiter avec une lenteur extrême.

Par conséquent seul un essai préalable de laboratoire, conduit empiriquement en ajoutant des quantités croissantes d'une solution convenablement diluée de ferrocyanure de potassium à des volumes égaux de vin, permettra d'établir la dose nécessaire pour le traitement en chai. Dès 1926 VON DER HEIDE proposait son procédé, qui a été ensuite en partie modifié par RIBÉREAU-GAYON.

Il est un point d'une importance essentielle pour la détermination exacte de la quantité de ferrocyanure de potassium à employer dans le traitement du vin à analyser : c'est la règle conseillée par cet auteur d'effectuer au cours des épreuves préliminaires la recherche de l'éventuel excès de ferrocyanure dans un laps de temps donné, à savoir pas plus de 10 minutes à partir de l'addition de ce dernier réactif, au lieu d'une durée non précisée qui, selon VON DER HEIDE, peut être de deux heures ou davantage. Il faut en effet ajouter au vin la dose de ferrocyanure de potassium qui est en mesure de se combiner avec le fer et de précipiter en un temps très court, au lieu de la dose de réactif voulue pour l'élimination complète du fer présent dans le vin. On évite de cette façon que le ferrocyanure de potassium nécessaire à la précipitation du fer trivalent engagé dans les complexes, reste au contact des acides du vin à cause du déroulement plus ou moins lent de la réaction, donnant ainsi naissance à de l'acide cyanhydrique. On sait en effet que les ferrocyanures alcalins sont, à température ordinaire, lentement décomposés par les acides minéraux et organiques en solution diluée, avec formation de ce composé toxique. Il est donc convenable, dans l'exécution de l'essai préalable d'adopter la méthode RIBÉREAU-GAYON, particulièrement pour le cas des vins peu acides, jeunes ou provenant de raisins botrytisés, dans lesquels la stabilité des complexes ferro-organiques est telle qu'elle rend relativement lente et progressive la combinaison du ferrocyanure avec le fer trivalent.

Nous ne nous arrêterons ni sur les règles à suivre dans l'exécution pratique du déferrage des vins par le ferrocyanure de potassium, parce que celles-ci ont été minutieusement précisées par divers auteurs, ni sur les méthodes analytiques de contrôle des vins traités, qui ont été récemment proposées et publiées par la Sous-Commission des Méthodes d'Analyse de l'Office International du Vin (3). Nous estimons plus intéressant au contraire de prendre en considération l'aspect physiologique et toxicologique du problème, qui est le plus discuté mais en même temps le plus important, car il intéresse la santé publique.

Certains des adversaires de ce traitement ont exprimé la crainte que puissent être ainsi enlevés du vin les oligo-éléments et une partie des facteurs biologiques, avec diminution par conséquent de sa valeur physiologique et alimentaire. Toutefois cette hypothèse n'a pas trouvé confirmation expérimentale jusqu'à présent.

Mais l'argument le plus fort, qui rend les législateurs de quelques pays hésitants ou nettement hostiles à l'autorisation du traitement des vins par le ferrocyanure, produit par lui-même inoffensif, c'est que le collage bleu doive être conduit dans chacune de ses phases (prélèvement des échantillons, exécution de l'essai préalable en laboratoire, traitement au chai) avec une rigueur et un soin extrêmes, sans lesquels il se forme dans le vin de l'acide cyanhydrique, toxique très puissant.

Il est certain que, dans les vins traités par ignorance ou par erreur avec des doses de ferrocyanure supérieures à la quantité requise par la teneur en fer précipitable, il se forme de l'acide cyanhydrique en quantités diverses, selon la composition et les conditions de conservation du vin. A température ordinaire, la décomposition du ferrocyanure de potassium par les acides du vin se déroule lentement, mais on peut la déceler en faisant usage, pour la détermination de l'acide cyanhydrique, de méthodes très sensibles. MICONI (4), sur un vin préalablement démétallisé et additionné de 6 g par hectolitre de ferrocyanure de potassium, a constaté après une heure la formation de 20 μg d'acide cyanhydrique par litre, après 3 heures de 50 μg par litre et, après 30 heures, la quantité qui s'était formée atteignait 500 μg par litre.

D'autres déterminations d'acide cyanhydrique, effectuées quelques jours après le traitement des vins avec une quantité excessive de ferrocyanure de potassium, ont été exécutées par FONTANELLI (5), CORDONNIER (6), TARANTOLA et MARCHETTI (7) ; les valeurs maximales trouvées tournent autour de 0,5 à 0,6 mg par litre d'acide cyanhydrique dans le cas où la quantité de ferrocyanure employée dépasse de 10 g par hectolitre la dose exactement nécessaire. En dehors du fait que pour les concentrations ci-dessus l'acide cyanhydrique est décelable dans le vin par l'odeur caractéristique d'amande amère, une erreur de cette importance ne devrait certainement pas se produire quand le traitement a été effectué sous tous ces aspects, analytiques et technologiques, sous le contrôle d'un technicien qualifié.

Mais même dans le cas non souhaité où cette éventualité se produirait, cela ne constituerait pas un danger pour la santé publique, puisqu'il faudrait une quantité d'acide cyanhydrique vingt fois plus grande que celle qui se trouve dans un litre de vin traité comme il a été indiqué plus haut pour déclencher des troubles passagers, et une quantité cent fois plus grande, à savoir 50 mg, pour être mortelle. Il ne faut pas non plus craindre une intoxication à long terme, puisque l'acide cyanhydrique ne s'accumule pas dans l'organisme, et qu'il est rapidement éliminé ou métabolisé.

Il faut ensuite se rappeler que l'acide cyanhydrique qui prend naissance dans les vins traités avec un excès de ferrocyanure ne reste à l'état libre que seulement en partie, car il a tendance à se combiner à certains constituants du vin, probablement de nature aldéhydique, pour former des composés relativement stables, que l'on pense être des cyanhydrines. Ce fait, remarqué pour la première fois par SALVARFZZA

(8) et confirmé ensuite par NÈGRE et CORDONNIER (9), est d'une grande importance en ce qui concerne deux aspects, l'un chimico-analytique, l'autre toxicologique. En effet, le contrôle des vins traités par le ferrocyanure ne devra pas se limiter à la recherche d'un éventuel excès de ce dernier et au dosage de l'acide cyanhydrique à l'état libre, mais aussi au dosage de l'acide cyanhydrique sous forme combinée.

En ce qui concerne l'aspect toxicologique, bien que les études sur les effets physiologiques des cyanhydrines n'aient pas encore été effectuées, on doit penser que l'acide cyanhydrique sous cette forme de combinaison est notablement moins toxique que sous sa forme libre, étant donné la remarquable stabilité de ces composés organiques. FONTANELLI (5) pense que l'acide cyanhydrique peut réagir avec les composés sulfureux, normalement employés dans la vinification, pour se transformer en sulfocyanures, composés stables dont la toxicité est minime. A cela on peut ajouter que très probablement la diminution progressive de l'acide cyanhydrique libre remarqué par SALVAREZZA, NÈGRE et CORDONNIER dans les vins, doit être due non seulement à la dissimulation de cet acide sous forme organique, mais aussi à sa décomposition partielle. On sait en effet que les solutions aqueuses de cyanures alcalins s'altèrent facilement à température ambiante, avec formation de substances inoffensives.

Il faut en plus se rappeler que tout le ferrocyanure de potassium éventuellement ajouté en excès n'est pas sujet à se décomposer pour former de l'acide cyanhydrique, car une partie de ce sel précipite sous forme de ferrocyanure ferrique. CORDONNIER (6) interprète le phénomène de la façon suivante : les anions $[Fe\ (CN)_6]$ — — — — dérivés de la dissociation du sel potassique libèrent en partie des ions Fe^{++}, qui à leur tour s'oxydent en ions Fe^{+++} pour réagir alors avec le ferrocyanure de potassium non encore décomposé. Pour les raisons données plus haut, la teneur en acide cyanhydrique libre décelable dans un vin traité avec une dose excessive de ferrocyanure est toujours très inférieure à la valeur calculée stœchiométriquement.

En ce qui concerne les effets physiologiques des vins traités avec les doses exactement nécessaires de ferrocyanure, les opinions des chercheurs qui ont procédé à des expériences « in vivo » ne sont pas concordantes. Selon FLANZY, CAUSERET, HUGOT et GUERILLOT (10) les anomalies anatomiques trouvées sur les sujets alimentés avec du vin traité prouvent une influence nettement défavorable du collage bleu. A l'opposé, MARCARD (11), VITTE et CASTAGNOU (12), lors de leur exposé au Congrès Médical International de Bordeaux en 1961 des résultats d'expériences effectuées sur des animaux de laboratoire et aussi sur l'homme, concluent à l'absolue innocuité du traitement. N'étant pas physiologiste, nous n'avons pas d'éléments pour juger ces divergences d'opinion ; nous nous limiterons donc à l'aspect analytique du problème.

On a considéré jusqu'en 1958 que les vins traités avec des doses appropriées de ferrocyanure de potassium étaient absolument exempts d'acide cyanhydrique, même quand la séparation du dépôt bleu était retardée au-delà des limites habituelles. La même année, ALBONICO (13), utilisant une méthode colorimétrique très sensible, remarquait dans certains vins correctement traités avec du ferrocyanure la présence d'acide cyanhydrique libre (de 2,2 à 4,7 μg par litre) et combiné sous forme organique (de 0,7 à 1,6 μg par litre). Ce fait était attribué par l'auteur à la solubilité, pour petite qu'elle soit, des ferrocyanures de fer et des autres métaux lourds qui se forment à la suite du traitement.

Ces résultats, bien qu'ils ne donnent pas directement lieu à des préoccupations d'ordre sanitaire, avaient toutefois un certain intérêt car ils prouvaient que, contrairement à ce qui avait été dit jusqu'alors, le traitement au ferrocyanure, même correc-

tement exécuté, pouvait être décelé dans les vins grâce à des méthodes d'analyses adéquates. Cette constatation était donc d'une grande importance pour les pays où l'emploi du ferrocyanure est interdit.

Mais un fait nouveau, d'un grand intérêt scientifique et pratique, constaté récemment, a contribué à rendre encore plus complexe le problème du contrôle du traitement. MESTRES (14), s'appuyant sur une méthode basée sur la réaction d'EPSTEIN, spécifique des cyanures et extrêmement sensible, a remarqué que « les levures alcooliques produisent ou contiennent une substance cyanogénétique qu'elles cèdent en partie aux liquides fermentés. Les vins non traités au ferrocyanure peuvent ainsi présenter de petites quantités de dérivés cyanés ou d'acide cyanhydrique qui pourraient faire croire indûment à la présence d'une petite quantité de ferrocyanure dû à un collage bleu maladroitement fait ». Sur 17 vins non traités au ferrocyanure, analysés par MESTRES, 10 accusaient la présence d'acide cyanhydrique libre, avec des valeurs comprises entre 4 et 140 μg par litre, et d'acide cyanhydrique combiné à raison de 5 à 230 μg par litre.

Ces résultats expérimentaux rendent nécessaire la création d'une limite légale pour l'acide cyanhydrique dans les vins, aussi bien dans les pays qui autorisent que pour ceux qui interdisent l'emploi du ferrocyanure, limite que RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD (Traité d'Œnologie, tome II, p. 891) estiment ne pas devoir être inférieure à 200 μg par litre.

Puisque la question intéresse aussi l'Italie, nous avons examiné, avec mon collaborateur CASTINO, 65 vins non traités par le ferrocyanure, provenant de diverses régions viticoles, en y déterminant l'acide cyanhydrique libre et combiné par la méthode EPSTEIN, à laquelle certaines modifications ont été apportées. Dans le tableau 1 sont résumés les résultats obtenus, qui font l'objet d'une publication actuellement sous presse.

TABLEAU 1

Acide cyanhydrique présent dans les vins italiens non traités au ferrocyanure de potassium

Acide cyanhydrique (μg par litre)	Libre		Combiné	
	Nombre d'échantillons	%	Nombre d'échantillons	%
absent	50	76,9	12	18,5
< 4	13	20,0	14	21,5
de 4 à 10	2	3,1	29	44,6
> 10	—	—	10	15,4

La teneur la plus élevée d'acide cyanhydrique libre trouvée a été de 5 μg par litre, celle de l'acide cyanhydrique combiné de 26 μg par litre. Ces valeurs, bien que très inférieures à celles trouvées dans les vins français, confirment l'assertion de MESTRES.

Toujours en collaboration avec CASTINO, nous avons actuellement en cours des expériences sur l'influence des divers facteurs (température, pH, durée du contact du vin avec le dépôt bleu) sur la formation d'acide cyanhydrique dans les vins traités correctement avec des doses excessives de ferrocyanure ; nous exposerons brièvement les premiers résultats obtenus.

FORMATION D'ACIDE CYANHYDRIQUE DANS UN VIN CORRECTEMENT TRAITÉ AU FERROCYANURE

Vin blanc sec de pH = 3,05

Acide cyanhydrique libre : absence

Acide cyanhydrique combiné : traces (< 4 μg par litre)

Dose de ferrocyanure nécessaire (selon la méthode RIBÉREAU-GAYON) : 0,115 g par litre.

Dose employée : 0,100 g par litre.

Essais sur 500 ml de vin dans une série de dix erlenmeyers conservés, après l'addition du ferrocyanure et de la colle de poisson (20 mg par litre), en partie en chai et en partie en thermostat à 25 °C.

Deux jours et plus après le traitement, on sépare par centrifugation le vin du dépôt, pour faire aussitôt la détermination de l'acide cyanhydrique libre et combiné.

TABLEAU 2

Acide cyanhydrique d'un vin correctement traité au ferrocyanure

Température	8 à 10 °C		25 °C	
Acide cyanhydrique μg par litre	Libre	Combiné	Libre	Combiné
Séparation du dépôt après :				
2 jours	traces	traces	traces	6
4 jours	traces	traces	traces	8
8 jours	traces	traces	traces	10
15 jours	traces	4	17	10
30 jours	traces	4	25	48

Le mot « traces » indique une quantité d'acide cyanhydrique inférieure à 4 μg par litre.

Les résultats obtenus, rapportés par le tableau 2, montrent que le traitement avec la dose correcte de ferrocyanure ne donne pas naissance, dans le vin conservé à la température du chai, à la formation d'acide cyanhydrique libre même après un mois de contact avec le précipité bleu. La quantité d'acide cyanhydrique combiné qui se forme après quinze jours est à peine dosable.

Dans le vin conservé à température plus élevée, on constate la présence d'acide cyanhydrique libre seulement au quinzième jour, alors que l'acide cyanhydrique combiné apparaît dès le début, en quantité cependant non supérieure, dans les quinze premiers jours, à celle que l'on trouve dans les vins italiens qui n'ont pas été traités au ferrocyanure.

On peut conclure qu'il ne faut pas, particulièrement pendant les mois d'été, retarder plus de huit à dix jours la séparation du vin de son dépôt bleu, puisque celui-ci est soumis à une action de décomposition assez lente, mais non négligeable, de la part des acides du vin.

Formation d'acide cyanhydrique dans un vin traité par un excès de ferrocyanure

Le même vin que celui de l'expérience précédente est traité avec 0,150 g de ferrocyanure de potassium par litre, au lieu de la dose exacte de 0,115 g par litre.

On effectua deux séries d'essais parallèles, en laissant dans la première le vin en contact avec le dépôt bleu pendant un nombre croissant de jours, après lesquels le vin centrifugé est soumis à l'analyse. Dans la deuxième série d'essais, on procéda à la séparation du vin de son dépôt, par centrifugation, 48 heures après l'addition du ferrocyanure, et on analysa les échantillons en même temps que ceux de la première série.

Les essais laissés au contact du dépôt comme les essais soumis à la centrifugation après 48 heures, ont été effectués en double, et un récipient a été conservé en chai à 8° - 10 °C et un autre en thermostat à 18 °C.

Tableau 3

Vin traité par un excès de ferrocyanure laissé au contact du dépôt

Température	Acide cyanhydrique µg par litre	Temps (en jours)				
		2	4	8	15	30
8 — 10 °C	Libre	7	20	11	73	103
	Combiné	33	32	14	29	38
	Total	40	52	25	102	141
18 °C	Libre	25	43	47	223	201
	Combiné	91	60	46	161	173
	Total	116	103	93	384	374

Tableau 4

Vin traité par un excès de ferrocyanure séparé de son dépôt après 48 h

Température	Acide cyanhydrique µg par litre	Temps (en jours)			
		4	8	15	30
8 — 10 °C	Libre	42	46	67	101
	Combiné	44	27	38	40
	Total	86	73	105	141
18 °C	Libre	85	173	247	251
	Combiné	76	68	132	128
	Total	161	241	379	379

Les résultats rapportés par les tableaux 3 et 4 montrent que :

1° La température plus élevée de conservation du vin, non seulement intensifie, comme cela est naturel, la décomposition du ferrocyanure employé en excès, mais

favorise en même temps la combinaison sous forme organique de l'acide cyanhydrique qui se forme.

2° La formation d'acide cyanhydrique libre et combiné est, au moins dans les premiers jours, plus intense dans le vin centrifugé après 48 heures que dans le vin conservé sur son dépôt bleu, et cela aussi bien à la température du chai qu'à 18 °C.

Ces résultats prouvent que le dépôt colloïdal enlève du vin et retient, probablement par adsorption, une bonne partie de l'acide cyanhydrique qui se forme par décomposition du ferrocyanure de potassium.

Des essais, effectués avec une solution-tampon additionnée de cyanure de potassium et de ferrocyanure ferrique précipité, lavé à plusieurs reprises par centrifugation, sont venus confirmer les résultats obtenus avec le vin.

Influence du pH sur la formation d'acide cyanhydrique dans un vin traité par un excès de ferrocyanure

Une partie du vin déjà employé dans les essais précédents fut portée à pH = 3,70 par addition de soude en solution concentrée ; une autre partie fut laissée au pH naturel. Les deux liquides furent conservés pendant quelques jours dans des récipients hermétiquement fermés ; ensuite on détermina les quantités de ferrocyanure de potassium nécessaires, en ajoutant dans les deux cas un même excès de ce sel, soit :

a) Vin à pH = 3,05 — Ferrocyanure nécessaire : 0,120 g par litre
Dose employée : 0,220 g par litre

b) Vin à pH = 3,70 — Ferrocyanure nécessaire : 0,100 g par litre
Dose employée : 0,200 g par litre

Les récipients furent conservés à 20 °C et on effectua périodiquement l'analyse des vins centrifugés.

Tableau 5

Influence du pH du vin sur la formation de l'acide cyanhydrique

Jours	pH = 3,05			pH = 3,70		
	Acide cyanhydrique µg par litre			Acide cyanhydrique µg par litre		
	Libre	Combiné	Total	Libre	Combiné	Total
3	275	125	400	91	116	207
6	348	296	644	213	°17	530
12	967	309	1276	457	352	809

Les résultats portés sur le tableau 5 montrent que la concentration des ions H^+ du vin, alors qu'elle conditionne, comme cela est naturel, l'intensité de la décomposition du ferrocyanure de potassium ajouté en excès, ne semble pas avoir d'influence sur le processus de combinaison de l'acide cyanhydrique qui se forme.

On observe aussi qu'après douze jours de conservation la présence de 1 mg environ par litre d'acide cyanhydrique à l'état libre dans le vin à la concentration d'ions hydrogène la plus élevée, traité par un excès de ferrocyanure de potassium s'élevant à 10 g par hl, se décèle par l'odeur caractéristique d'amande amère.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(1) J. RIBÉREAU-GAYON. Collage bleu. Delmas Ed., Bordeaux, 1935. (2) M. SALVAREZZA. *Annuario R. Stazione Enologica Asti.* Série II, Vol. II, 1935-37. (3) Bulletin international du Vin, 1962, **379**, 1213. (4) C. MICONI. *Rivista Viticol. Enol.* 1952, **5**, 183. (5) G. FONTANELLI. *Annali Facoltà di Agraria di Pisa*, 1947, **8**, 108. (6) R. CORDONNIER. *Ann. Falsif. Fraudes*, 1952, **45**, 415. (7) C. TARANTOLA et G. MARCHETTI. *Atti Accad. Ital. Vite Vino*, 1960, **12**, 187. (8) M. SALVAREZZA. *Annali Chimica Applicata*, 1934, **24**, 446. (9) E. NÈGRE et R. CORDONNIER. *C.R. Acad. Agric.*, 1952, **9**, 346. (10) M. FLANZY, J. CAUSERET, D. HUGOT et J. GUERILLOT. *Annales Technol. Agric.*, 1955, 373.

(11) R. MARCARD. *Congrès Médical International*, Bordeaux, 1961, p. 132. (12) G. VITTE et R. CASTAGNOU. *Congrès Médical International.* Bordeaux, 1961, p. 155. (13) F. ALBONICO. *Rivista Vitic. Enol.*, 1958, 352 et 387. (14) R. MESTRES. *Ann. Falsif. Fraudes*, 1961, **54**, 284.

Résumé

La démétallisation des vins par le ferrocyanure de potassium est un procédé complexe par le fait que le fer II se combine rapidement avec ce sel, tandis que le fer III, en partie lié aux hydroxyacides, réagit progressivement. L'essai de laboratoire qui précède le traitement pratique dans le chai doit indiquer la dose de ferrocyanure de potassium qui réagit avec le fer en peu de minutes ; on évite de cette façon la possibilité de la formation d'acide cyanhydrique par décomposition du ferrocyanure sous l'action des acides du vin.

Dans les vins traités avec un excès de ferrocyanure de potassium, l'acide cyanhydrique se trouve en partie à l'état libre et en partie à l'état combiné sous forme organique. Le fait, indiqué récemment, que des vins français non soumis au traitement par le ferrocyanure de potassium pouvaient contenir jusqu'à 140 μg d'acide cyanhydrique libre par litre, rend nécessaire la fixation d'une limite légale. L'examen de nombreux vins italiens a montré que 20 % d'entre eux contiennent de l'acide cyanhydrique libre à des concentrations ne dépassant pas 5 μg par litre ; la présence d'acide cyanhydrique combiné est plus fréquente, avec un maximum de 26 μg par litre.

Dans un vin correctement traité, on ne rencontre pas d'acide cyanhydrique, ni libre, ni combiné, en quantité dosable. On relève seulement la présence d'acide cyanhydrique, toutefois en quantités infimes, en laissant le vin en contact du dépôt à la température de 25 °C pendant quelques semaines.

Des expériences effectuées en employant des doses excessives de ferrocyanure de potassium ont montré qu'une augmentation de la température de conservation intensifie la décomposition du sel et favorise la combinaison de l'acide cyanhydrique sous forme organique. Le dépôt bleu laissé en contact avec le vin lui enlève et conserve, probablement par adsorption, une partie de l'acide cyanhydrique dérivant de la décomposition du ferrocyanure en excès.

WINE TREATMENT BY POTASSIUM FERROCYANIDE

C. TARANTOLA

Summary

Demetallization of wine by potassium ferrocyanide is a complicated process owing to the fact that iron II combines with this salt quickly, whilst iron III, being partly complexed with hydroxyacides reacts progressively. The laboratory test taking place before the practical treatment in the cellar, must determine the quantity of potassium ferrocyanide which can react with iron within a few minutes ; thus one can avoid the possibility of formation of hydrocyanic acid by the decomposition of ferrocyanide under the action of the acids of wine.

In wine treated with an excess of potassium ferrocyanide, hydrocyanic acid is to be found partly in a free state and partly combined in an organic form. The fact, pointed out recently, that French wines, which had not been treated previously with potassium ferrocyanide, could contain up to 140 μg per liter of free hydrocyanic acid, makes it necessary to set a legal limit. 20 % of numerous Italian wines which have been examined have been shown to contain free hydrocyanic acid with percentages not rising above 5 μg per liter ; combined hydrocyanic acid appeared more often with a maximum quantity of 26 μg per liter.

In properly treated wine, hydrocyanic acid is not found, either free, or combined, in measurable quantities. One only notices that hydrocyanic acid is present, yet in minute quantity, if wine is left in contact with the deposit for a few weeks, at a temperature of 25 °C. Experiments performed with excessive quantities of potassium ferrocyanide have shown that an increase of the temperature of preservation intensifies the decomposition of the salt and promotes the combination of hydrocyanic acid in an organic form. The blue deposit left in contact with wine removes from it and preserves, probably by adsorption, part of the hydrocyanic acid deriving from the decomposition of the ferrocyanide in excess.

DIE BEHANDLUNG DER WEINE MIT KALIUMFERROZYANID

C. TARANTOLA

ZUSAMMENFASSUNG

Die Entfernung der Metalle im Wein mit Kaliumferrozyanid ist ein sehr komplexer Vorgang weil sich das Fe II mit diesem Salz sehr schnell verbindet, während das teilweise an Hydroxysäuren gebundene Fe III nur allmählich reagiert. Beim Laborversuch, welcher der praktischen Behandlung im Keller vorausgeht, muss die Ferrozyanid-Menge ermittelt werden, welche mit dem Eisen in wenigen Minuten reagiert. Auf diese Weise verhindert man die mögliche Blausäurebildung, welche durch Zersetzung des Ferrozyanids infolge der Einwirkung der Säuren des Weines eintreten kann.

In einem mit einem Überschuss an Kaliumferrozyanid behandelten Wein befindet sich die Blausäure zum Teil frei und zum Teil in organischer Bindung. Die neuerdings aufgezeigte Tatsache, dass in nicht blaugeschönten französischen Rotweinen bis zu 140 µg freie Blausäure im Liter enthalten sein könne, macht die Festsetzung einer gesetzlichen Grenze notwendig. Die Prüfung verschiedener italienischer Weine hat gezeigt, dass bei 20 % unter 5 µg freie Blausäure im Liter enthalten sind. Die gebundene Blausäure kommt häufiger vor und beträgt höchsten 26 µg.

In einem richtig behandelten Wein findet man weder gebundene noch freie Blausäure in bestimmbaren Mengen. Man findet allerdings geringe Mengen von Blausäure, wenn der Blautrub während mehrerer Wochen bei einer Temperatur von 25 °C mit dem Wein in Kontakt geblieben ist. Bei Versuchen übermässig grossen Zugaben von Kaliumferrozyanid hat sich gezeigt, dass eine Erhöhung der Lagertemperatur die Zersetzung des Salzes fördert und die Umwandlung der Blausäure in organische Bindung begünstigt. Der mit dem Wein in Kontakt befindliche Blautrub entzieht (vermutlich durch Adsorption) einen Teil der Blausäure, die von dem im Überschuss zugesetzten Ferrozyanid herrührt.

TRATTAMENTO DEI VINI CON IL FERROCIANURO DI POTASSIO

C. TARANTOLA

RIASSUNTO

La demetallizzazione dei vini con ferrocianuro potassico è un processo complesso per il fatto che, mentre il Fe^{II} si combina rapidamente con questo sale, il Fe^{III} essendo in parte legato agli idrossiacidi, reagisce gradualmente. Il saggio di laboratorio che precede il trattamento di cantina deve indicare la dose di ferrocianuro che reagisce con il ferro entro pochi minuti ; si evita in ta modo la possibilità che dalla decomposizione del ferrocianuro per opera degli acidi del vino prenda origine acido cianidrico.

Nei vini trattati con eccesso di ferrocianuro l'acido cianidrico si trova in parte libero e in parte combinato sotto forma organica. Il fatto, rilevato di recente, che vini francesi non sottoposti a trattamento con ferrocianuro possono contenere sino a 140 g/litro di acido cianidrico libero, rende necessaria l'istituzione di un limite legale. L'esame di numerosi vini italiani ha dimostrato che il 20 % di essi contiene acido cianidrico libero in mesura non superiore a 5 µg/litro ; più frequente è la presenza di acido cianidrico combinato, con un massimo di 26 µg/litro.

In un vino correttamente trattato non si sono riscontrate quantità dosabili di acido cianidrico, né libero, né combinato ; solo lasciando a contétto per alcune settimane il vino col deposito a temperatura di 25 °C si è rilevata la presenza di acido cianidrico, tuttavia in quantità minime. Esperienze effettuate impiegando dosi eccessive di ferrocianuro hanno dimostrato che un aumento della temperature di conservazione intensifica la decomposizione del sale e favorisce la combinazione dell'acido cianidrico sotto forma organica. Il deposito azzurro lasciato a contatto del vino sottrae a questo e trattiene, probabilmente per adsorbimento, una parte dell'acido cianidrico derivante dalla decomposizione del ferrocianure in eccesso.

TRATAMIENTO DE LOS VINOS CON EL FERROCIANURO DE POTASIO

C. TARANTOLA

RESUMEN

La desmetalizacion de los vinos con el ferrocianuro de potasio es un procedimiento complejo, por el hecho de que el hierro II se combina rápidamente con esta sal, mientras que el hierro III, ligado en parte a los ácidos hidroxilados, reacciona progresivamente. El ensayo de laboratorio que precede

al tratamiento práctico en la bodega, debe indicar la dosis de ferrocianuro de potasio que reacciona con el hierro en pocos minutos ; se evita de esta manera la posibilidad de la formación de ácido cianhídrico por descomposición del ferrocianuro bajo la acción de los ácidos del vino.

En los vinos tratados con un exceso de ferrocianuro de potasio, el ácido cianhídrico se encuentra en parte al estado libre y en parte al estado combinado bajo forma orgánica. El hecho, indicado recientemente, de que los vinos franceses no sometidos al tratamiento por el ferrocianuro de potasio, podian contener hasta 140 μg de ácido cianhídrico libre por litro, hace necesario el fijar un límite legal. El examen de numerosos vinos italianos ha demostrado que 20 % de ellos contienen acido cianhidrico libre a concentraciones que no pasan de 5 μg por litro ; la presencia de àcido cianhidrico combinado es más frecuente, con un máximo de 26 μg por litro.

En un vino correctamente tratado, no se encuentra ácido cianhidrico, ni libre, ni combinado, en cantitad que se pueda determinar. Se encuentra solamente la presencia de ácido cianhidrico, aunque en cantitades infimas, dejando el vino en contacto con el depósito, a la temperatura de 25 °C durante algunas semanas. Experiencias efectuadas usando cantidades excesivas de ferrocianuro de potasio han mostrado que un aumento de la temperatura de conservación intensifica la descomposición de la sal y favorece la combinación del ácido cianhidrico en forma orgánica. Cuando se deja el depósito azul en contacto con el vino, este ultimo le quita y conserva, probablemente por adsorción, una parte del ácido cianhidrico, que deriva de la descomposición del ferrocianuro en exceso.

DISCUSSION

M. JAULMES (Montpellier) est heureux de voir M. TARANTOLA confirmer sur des vins italiens les résultats obtenus dans son laboratoire. Si M. MESTRES a trouvé davantage d'acide cyanhydrique naturel que M. TARANTOLA, c'est qu'il a analysé des vins blancs moelleux non dépouillés. La présence d'acide cyanhydrique naturel doit rendre prudents les laboratoires officiels de contrôle. Aussi la méthode internationale de dosage de l'acide cyanhydrique total et la méthode officielle française ont été choisies de sensibilité limitée à 270 µg par litre, ce qui donne tout apaisement d'ordre toxicologique. La spoliation provoquée par le traitement par le ferrocyanure en substances azotées et en métaux utiles a été un des arguments des adversaires de ce traitement. Or le traitement par la bentonite est beaucoup plus spoliateur en substances azotées que le traitement par le ferrocyanure. Quant au fer, certains cliniciens ont observé des cirrhoses alcooliques compliquées par une hépatosidérose d'origine vinique, et on a pu se demander s'il ne faudrait pas limiter la teneur des vins en fer dans l'intérêt de la santé des consommateurs.

M. RIVOIRE (Mâcon) : La question est en relation avec les trois derniers exposés, celui de M. RENTSCHLER sur les troubles métalliques des vins et leur traitement, celui de M. CORDONNIER relatif à l'emploi des phytates, et celui de M. TARANTOLA concernant le traitement des vins au ferrocyanure de potassium. M. RENTSCHLER nous a entretenu en particulier des troubles dus à un enrichissement accidentel en aluminium. Ces enrichissements sont heureusement rares, mais cependant de plus en plus fréquents. J'aimerais que les rapporteurs précisent leur opinion sur les possibilités d'élimination de l'aluminium. Pratiquement il me semble que l'on ne puisse pas s'attendre à un bon résultat avec le ferrocyanure de potassium. Je crois par contre que le phytate est susceptible d'une action intéressante.

M. TARANTOLA : Le ferrocyanure de potassium ne précipite pas l'aluminium et par conséquent ce traitement n'est pas efficace pour prévenir les troubles déterminés par ce métal.

M. RENTSCHLER et CORDONNIER n'ont pas étudié l'action précipitante des phytates sur les sels d'aluminium. Ce problème mériterait une étude.

M. GENDROT (Bordeaux) signale une application possible de l'acide ascorbique dans les vins devant être traités au ferrocyanure de potassium. Il arrive en effet que pour certains vins, types Muscat ou Sauternes, d'acidité généralement faible, la plus grande partie du fer se trouve à l'état de complexes ferriques, sous une forme donc où il n'est pas immédiatement précipitable par le ferrocyanure. Dans ces conditions l'essai préalable indique que le vin ne peut être traité au ferrocyanure sans surcollage momentané. Ces vins ne sont pas susceptibles de casse ferrique, à la température normale tout au moins, mais peuvent présenter une teneur élevée en cuivre et dans ce cas le traitement au ferrocyanure de potassium serait utile. On peut tourner la difficulté, d'après M. GENDROT, en réduisant au préalable la plus grande partie du fer ferrique en fer ferreux grâce à l'addition de 5 à 6 g d'acide ascorbique par hectolitre, faite 24 h à l'avance. Comme l'indiquent MM. RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD dans leur *Traité d'Œnologie*, t. II, p. 900 : « Contrairement à certaines affirmations, le traitement réussit mieux et permet d'éliminer sans inconvénient plus de fer, dans les vins privés d'oxygène dissous, où le fer est à l'état ferreux ». L'addition d'acide ascorbique permet précisément de faire passer le fer du vin à l'état ferreux, sous une forme donc immédiatement précipitable par le ferrocyanure.

INTERVENTION DE J. RIBÉREAU-GAYON

Directeur de la Station Agronomique et Œnologique de Bordeaux (France)

Traitement des vins par le ferrocyanure. Technique de l'essai préalable

Mon intervention n'a pas pour but de compléter l'excellent rapport de M. TARANTOLA. Elle est plutôt d'ordre historique, car je me suis beaucoup intéressé dans le passé aux complexes du fer et à l'action du ferrocyanure. Dans les années récentes, de grands progrès, auxquels je n'ai pas participé, ont été apportés à l'étude scientifique de la méthode, en France et en Italie, par le dosage de l'acide cyanhydrique.

En 1934 j'ai été amené à préconiser une technique de l'essai préalable que je crois la plus générale, la plus sûre et en même temps la plus simple. Elle a été adoptée par certains, mais pas d'une façon générale. Je rappelle ces notions qui ont fait à l'origine l'objet de beaucoup de discussions.

Je m'étais d'abord intéressé au fer du vin en tant que catalyseur d'oxydation. J'ai donc été amené à étudier les états du fer dans le vin et j'ai pu montrer que ce métal est sous forme de complexes imparfaits et solubles, laissant le liquide parfaitement limpide et ne permettant qu'une concentration infime des ions ferriques. C'est cependant par ces ions que s'engagent les précipitations, soit du phosphate ferrique de la casse blanche (précipitation naturelle), soit du ferrocyanure ferrique dans le traitement (précipitation provoquée).

Les mécanismes de ces deux précipitations sont analogues. Le mécanisme chimique d'abord : insolubilisation des ions ferriques et dissociation simultanée et progressive des complexes jusqu'à ce que la concentration des ions ferriques soit trop faible pour que la précipitation continue. Le mécanisme colloïdal ensuite : floculation par les cations et les protéines du vin, du phosphate ferrique ou du ferrocyanure ferrique, d'abord en solution colloïdale limpide.

Le principe essentiel est le suivant : dans le traitement au ferrocyanure l'essai préalable doit avoir pour but, non pas de rechercher la dose de ferrocyanure qui ne laisse dans le vin qu'une teneur en fer déterminée, 4 ou 6 mg par litre par exemple, mais de rechercher la quantité de ferrocyanure qui est complètement et immédiatement combinée au fer du vin, sans s'occuper de sa teneur en fer.

Cette remarque résulte précisément de ce que le fer du vin n'est pas à l'état de sels simples, mais de complexes plus ou moins ionisés et plus ou moins facilement décomposés par le ferrocyanure, et de ce que, en conséquence, il peut exister simultanément dans un vin du fer et du ferrocyanure non combinés (vins d'acidité réelle faible, vins riches en acide citrique, vins issus de vendanges botrytisées). D'ailleurs les vins les plus résistants à l'élimination du fer sont également, pour la même raison, résistants à la casse ferrique, précipitation de phosphate ferrique, même pour des teneurs en fer élevées, de 20 ou 25 mg par litre par exemple.

En suivant ce principe, on évitera à coup sûr, et dans tous les cas, un excès passager de ferrocyanure avec, pour conséquence possible, un bleuissement du vin ou un dépôt bleuté après filtration, tout en évitant sûrement, et dans tous les cas, la moindre casse ferrique ou cuivrique. Je pense toujours que les meilleurs résultats pratiques sont obtenus par la méthode empirique de VON DER HEIDE, modifiée et en même temps simplifiée par moi-même en 1934, afin de la rendre applicable à tous les types de vin, notamment à tous les vins issus de vendanges botrytisées.

Je rappelle seulement deux points de cette technique que je crois importants, et c'est là surtout que je veux en venir. Le papier filtre adsorbe des quantités notables de ferrocyanure non combinées et, en conséquence, dans l'essai préalable la filtration doit autant que possible être remplacée par la centrifugation. D'autre part, dans l'exécution même du traitement, le collage qui suit l'addition de ferrocyanure a une fonction précise et nécessaire : entraîner, par floculation mutuelle des deux colloïdes, protéine et bleu de Prusse, la précipitation rapide de ce dernier et, par conséquent, obtenir son arrêt total par la filtration ; s'il n'en est pas ainsi, le bleu de Prusse colloïdal traverse plus ou moins la surface filtrante et se rassemble par la suite en flocons bleus. Si donc on a incorporé au vin une quantité de ferrocyanure telle qu'une partie ne se combine au fer que progressivement (au lieu d'incorporer seulement la quantité qui se combine immédiatement et complètement), la combinaison n'est pas achevée avant la précipitation de la protéine et une partie traverse le filtre.

En somme, il faut que la combinaison de tout le ferrocyanure ajouté précède le collage. Cette règle est basée sur des observations pratiques en même temps qu'elle est conforme à la théorie du collage. Il faut d'ailleurs que le ferrocyanure soit rapidement combiné pour éviter sûrement tout commencement de précipitation.

L'essai préalable comporte deux temps, l'épreuve préparatoire et l'épreuve principale. La contre-épreuve de la méthode allemande a été supprimée et chacune des deux premières épreuves a été simplifiée. J'ajoute que l'épreuve préparatoire peut être remplacée par un dosage du fer du vin et un calcul approximatif de la quantité de ferrocyanure à ajouter basé sur la relation : 1 de fer est précipité par 6 de ferrocyanure (en réalité 5 à 9) ; l'épreuve principale est alors effectuée avec des additions de ferrocyanure voisines de celle ainsi calculée.

Afin d'éviter les inconvénients signalés plus haut dans le cas des vins où le fer est fortement dissimulé, il est nécessaire d'effectuer le traitement peu de temps après la prise de l'échantillon, surtout si le vin a récemment subi des manipulations ; on est ainsi assuré que les proportions de fer ferreux et de fer ferrique sont les mêmes au moment de l'essai et au moment du traitement, et donc les quantités de ferrocyanure nécessaires et suffisantes.

En particulier, dans un vin qui subit une casse ferrique, l'insolubilisation progressive du fer peut fausser complètement l'essai préalable. Autant que possible on doit éviter que les vins ne soient aérés avant le traitement : plus le fer est à l'état ferrique, donc engagé dans des complexes solides, plus les chances sont grandes d'une précipitation progressive du fer. Le traitement réussit mieux et permet d'éliminer sans inconvénient plus de fer dans les vins privés d'oxygène dissous, où le fer est à l'état ferreux, beaucoup moins fortement complexé.

En conclusion, on s'attachera à ne traiter au ferrocyanure qu'à bon escient, et correctement ; on ne cherchera pas à simplifier à tout prix en se réservant de « rectifier » un traitement malheureux, par coupage par exemple. L'existence d'une précipitation prolongée résulte d'une addition excessive de ferrocyanure, supérieure à celle qui est aussitôt combinée au fer. D'une façon générale, un traitement rapidement exécuté est préférable, mais à la condition que la dose de ferrocyanure ait été déterminée comme il a été prescrit ici, à la condition de prendre pour objectif d'éliminer le fer dangereux et non d'éliminer le plus de fer possible, comme il est souvent demandé.

Par ailleurs il semble que l'autorisation d'emploi du ferrocyanure de potassium pourrait entraîner celle du ferrocyanure ferrique adsorbé par de la terre d'infusoires utilisée en couches filtrantes. Ce procédé permet d'éliminer le cuivre du vin par échange d'ions, en remplaçant ce métal par une quantité équivalente, toujours très faible, de fer.

Je voudrais enfin rappeler que le ferrocyanure n'est pas un remède universel à tous les maux dont souffrent les vins blancs. Il est seulement un outil commode qui vient s'insérer utilement dans toute une technique recherchant la meilleure qualité et la meilleure présentation à tous égards. Il faut faire appel à l'œnologue compétent pour le traitement au ferrocyanure, mais aussi pour les autres traitements et pour la réalisation des meilleures conditions de vinification et de conservation.

PROTÉINES DES VINS BLANCS.
TRAITEMENTS DES PRÉCIPITATIONS PROTÉIQUES PAR CHAUFFAGE ET A L'AIDE DE LA BENTONITE

J. KOCH

Directeur de l'Institut de Recherches sur les Boissons, Mayence (Allemagne)

Comme j'ai pu le montrer avec mes collaborateurs SCHWAHN, FRETER et SAJAK (1 à 3), une protéine « soluble » est présente dans le jus de raisins mûrs. Cette protéine peut être isolée par précipitation à l'aide de sulfate d'ammonium ou par ultrafiltration (4) et elle peut être séparée par électrophorèse en plusieurs fractions se déplaçant vers l'anode.

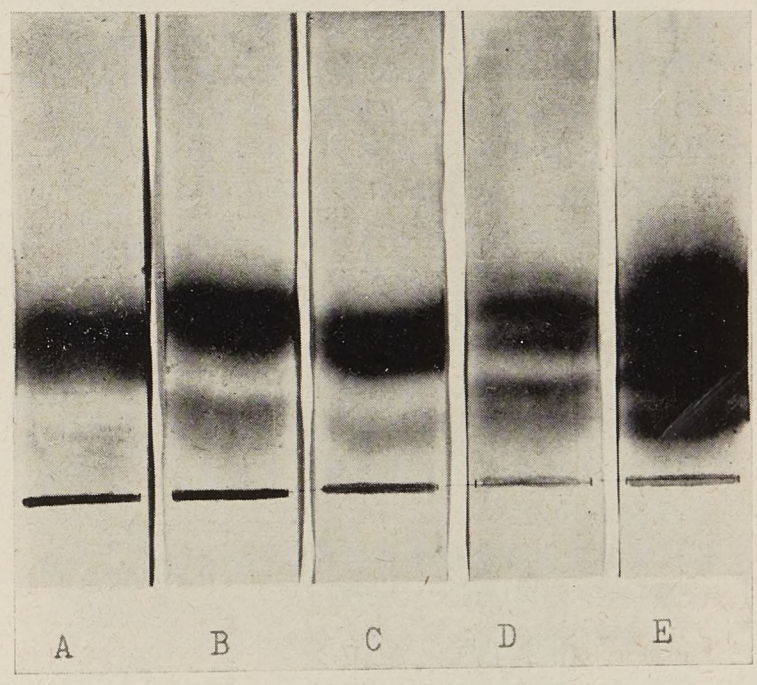


FIG. 1. — Bandes d'électrophorèse (phérogramme) montrant le fractionnement des protéines de différents jus de raisins allemands pressés récemment. *A)* Riesling. *B)* Müller-Thurgau. *C)* CD 49-83. *D)* Seibel 52-79. *E)* Gewürztraminer.

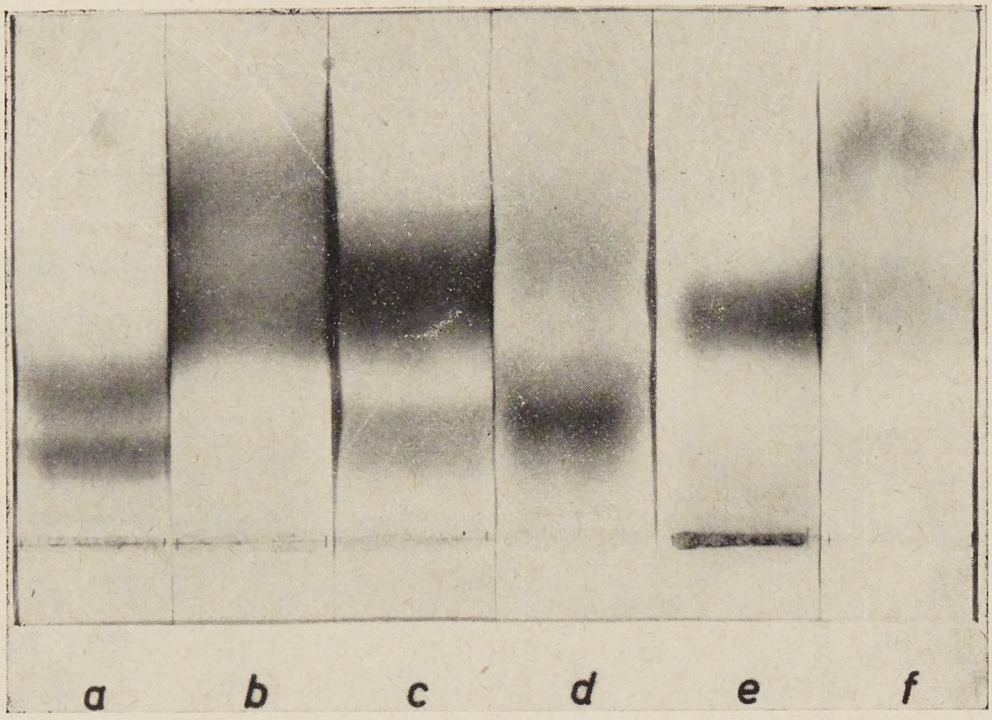


FIG. 2. — Phérogramme montrant les diverses fractions des protéines de jus de raisins français. a = Listan blanc ; b = Aramon noir ; c = Clairette ; d = S.V. 12 375 ; e = Terret Bourret ; f = Carignan noir.

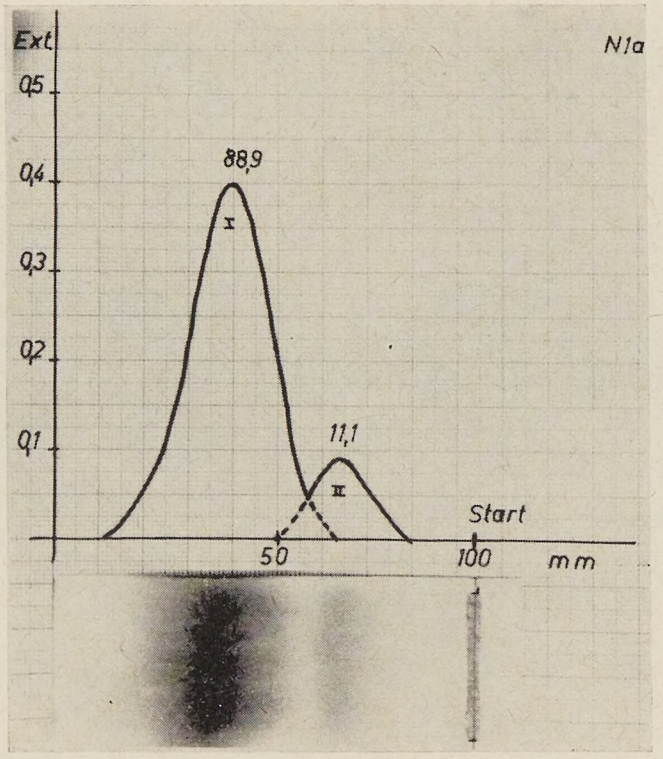


FIG. 3. — Enregistrement photométrique d'un phérogramme.

Chaque cépage a une protéine spécifique. On peut distinguer des cépages riches ou pauvres en protéine. On n'a pas trouvé de cépages exempts de protéine.

Les phérogrammes ou bandes d'électrophorèse peuvent être enregistrées photoélectriquement ; on obtient alors des pics caractéristiques donnant un renseignement sur les quantités de chaque fraction de protéine, en planimétrant les surfaces représentées par les courbes.

Le degré de maturité des raisins est, avec le climat et la fumure, d'une importance capitale pour les teneurs en protéine. Ces teneurs augmentent avec une maturité croissante. La question de savoir si la présence de protéine « soluble » peut être expliquée comme le résultat d'une protéosynthèse n'a pas pu être résolue par les résultats de nos recherches sur la maturité. En 1958 l'apparition de protéine « soluble » a été observée pour le cépage Seibel 52-79 (fig. 4) en même temps qu'une importante

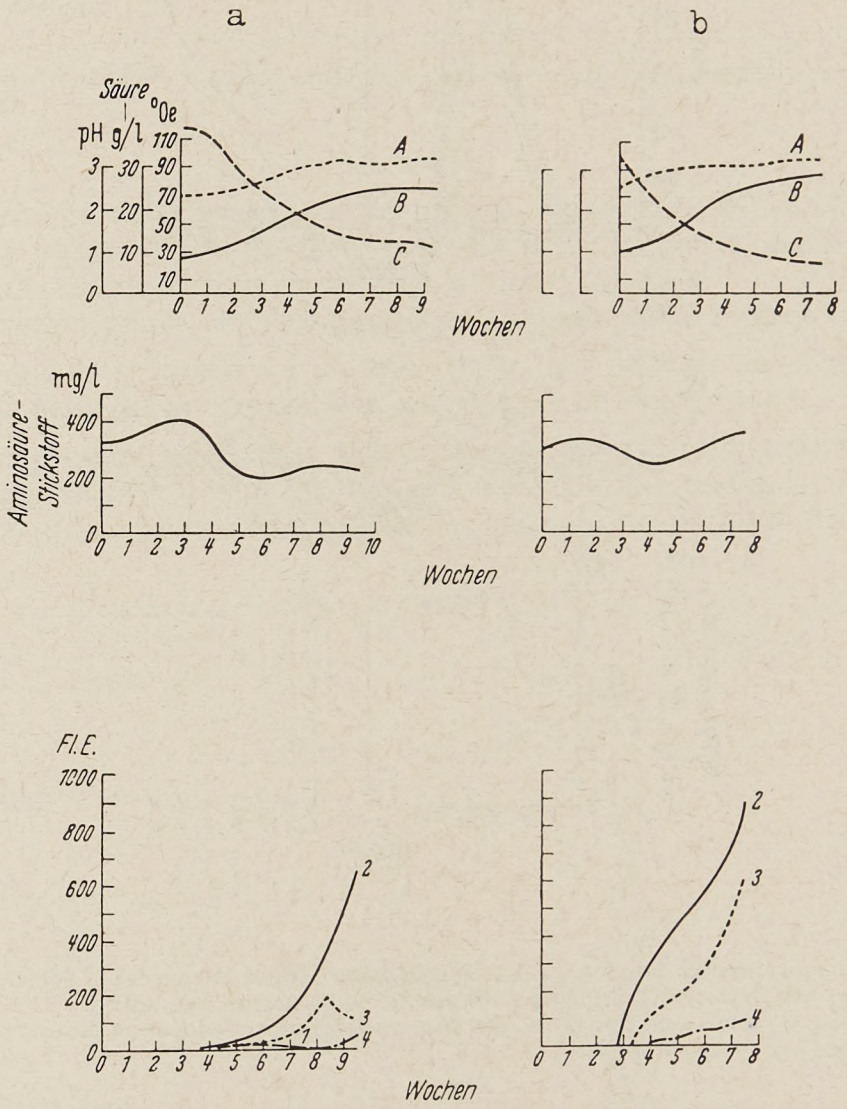


FIG. 4. — Recherches sur la maturité du cépage Seibel 52-79 ; à gauche : 11 août, 16 octobre 1958 ; à droite : 3 août, 24 septembre 1959.

En haut : A = pH, B = degré Oechsle, C = Acidité totale.

Au milieu : Teneur en azote aminé.

En bas : Evolution des fractions de protéine 1 à 4.

diminution d'aminoacides. En 1959, par contre, il y eut une légère augmentation de la teneur en aminoacides parallèlement à la formation de protéine.

Comme la teneur en pectine du jus de raisin augmente avec la teneur en protéine (alors que le taux d'estérification de la pectine diminue), on peut par contre soupçonner une relation entre la formation de la protéine « soluble » et celle des pectines « solubles ».

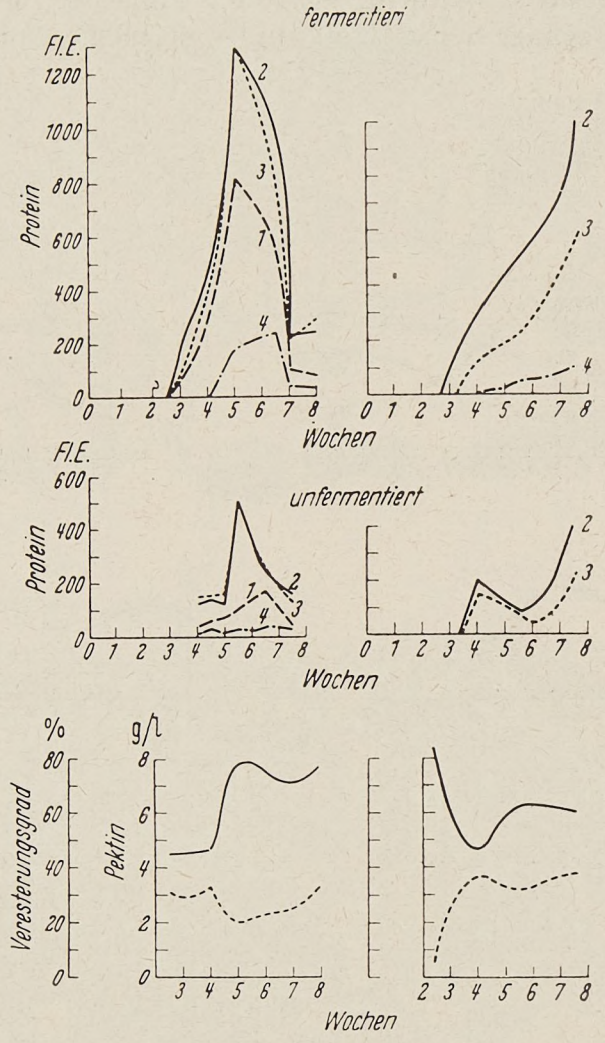


FIG. 5. — Recherches sur la maturité des cépages Léon Milliot (à gauche) et Seibel 52-79 (à droite). En haut : Teneurs des fractions de protéine 1 à 4 des raisins fermentés. Au milieu : Teneurs des fractions de protéine 1 à 4 des raisins non fermentés. En bas, en trait plein : teneur en pectine soluble ; en pointillé : degré d'estérification de la pectine.

Dans le moût provenant de vendanges traitées avec des enzymes pectolytiques, on peut observer une teneur en protéine soluble plus grande que dans les moûts des vendanges témoins (4). On doit donc admettre que la protéine soluble est liée aux matières pectiques.

Aminoacides	Sucres
Glycocolle	Fucose
Alanine	Galactose
Valine	Glucose
Leucine	Mannose
Isoleucine	Rhamnose
Phénylalanine	Xylose
Thyrosine	
Tryptophane	
Proline	
Sérine	
Thréonine	
Cystine	
Méthionine	
Acide aspartique	
Acide glutamique	
Histidine	
Lysine	
Arginine	

FIG. 6. — Aperçu général sur les aminoacides et les sucres constituant la protéine des raisins Riesling et Müller-Thurgau.

Des recherches minutieuses sur les raisins Riesling et Müller-Thurgau ont prouvé que la protéine soluble est une glucoprotéine (5) composée de dix-huit aminoacides différents. La proportion de sucre atteint environ 4,5 à 5 %. Comme constituants de la fraction sucrée, on a pu reconnaître la présence de sept sucres différents.

Les fractions de la protéine d'un seul cépage, par exemple du Riesling, se distinguent simplement par la composition quantitative des aminoacides.

Puisque la protéine soluble est retenue quantitativement par l'ultrafiltre « L sg 960 » et non par le filtre le plus fin, le poids moléculaire supposé est de l'ordre de 20 000 environ (6). Cette protéine soluble de raisin de poids moléculaire réduit ne

Aminoacides	Fractions	
	F1γ en %	F2 en %
Acide aspartique	11,9	11,7
Thréonine	7,4	6,0
Sérine	5,5	4,8
Proline	3,0	5,1
Acide glutamique	4,4	4,6
Glycocolle	5,0	4,9
Alanine	4,6	3,8
Valine	1,7	2,8
Cystine	1,6	1,5
Méthionine	1,7	1,3
Isoleucine	1,8	2,4
Leucine	3,9	4,3
Tyrosine-Phénylalanine	10,8	8,5
Glucosamine	1,1	1,2
Histidine	1,0	3,5
Lysine	13,6	11,8
Arginine	2,8	3,2
Ammoniaque	2,2	2,0

FIG. 7. — Aperçu général sur la composition quantitative en aminoacides des fractions 1 γ et 2 du cépage Riesling.

peut être comptée parmi les protéoses. Il s'agit plutôt d'un corps ressemblant à la globuline, qui montre lors des recherches électrophorétiques une vitesse de migration semblable à celle de la globuline, et qui se laisse précipiter complètement par une solution concentrée de sulfate d'ammonium d'un degré de saturation égal à 0,6.

Le point isoélectrique de la protéine des raisins des six cépages examinés se situe entre 3,3 et 4,0 ; il est déterminé par électrophorèse.

La protéine soluble ne doit pas être considérée comme un constituant normal du moût, car elle devrait dépendre alors pour chaque cépage de la densité du moût ; mais ce n'est pas le cas. Dans la figure 9 sont comparées les protéines « solubles » de quatre cépages allemands différents, pour une année normale (1958) et pour une année riche en protéine (1959). Tous les cépages montrèrent en 1959 une quantité de protéine représentant plusieurs fois celle de 1958, sans que le rapport des différentes fractions ait changé essentiellement.

Cépage	Point isoélectrique	pH
Gewürztraminer	3,3	4,16
Weissburgunder	3,3	3,66
Riesling	3,5	3,31
Müller-Thurgau	3,6	3,60
Silvaner	3,7	3,78
Ruländer	3,7	3,87
Gutedel	4,0	3,30

FIG. 8. — Indication des points isoélectriques et des pH des cépages étudiés (vins).

Pour la protéine soluble de raisin, il s'agit, d'après nous, d'une fraction d'une globuline de poids moléculaire élevé, liée à des matières pectiques, apparaissant lors de la formation ou de la dégradation de celles-ci comme un produit intermédiaire. Les années pendant lesquelles la synthèse des protéines se fait normalement, la protéine soluble des raisins n'est présente qu'en concentration réduite dans le jus de raisin. Les années ayant eu un ensoleillement au-dessus de la moyenne et très peu de pluie, c'est-à-dire les années mûres, la protéine est présente en beaucoup plus grande concentration, ce qui pourrait être la suite d'un métabolisme azoté perturbé. Dans de semblables années, certains vins blancs, surtout le Riesling et le Müller-Thurgau, ont tendance à ce qu'on appelle la casse protéique (7, 8).

Par suite d'une teneur réduite en acidité du moût au cours de ces années, le pH du vin et le point isoélectrique de la protéine soluble sont identiques ou bien sont très voisins l'un de l'autre. Les circonstances sont donc spécialement favorables pour une précipitation de la protéine, précisément lorsque le vin atteint de façon naturelle la quantité maximale de protéine.

La coïncidence du pH et du point isoélectrique peut ainsi être avantageuse, car la protéine peut déjà être précipitée dans le moût, de telle façon qu'après la fermentation on obtient des vins très pauvres en protéine. C'est le cas surtout par exemple pour le cépage Müller-Thurgau. Les vins pour lesquels l'écart entre le point isoélectrique et le pH est important (par exemple Gewürztraminer) ou bien pour lesquels le pH s'élève lors de la fermentation malolactique et s'éloigne ainsi de la zone permettant la précipitation (par exemple Ruländer), peuvent être considérés comme des vins à protéine stable, puisqu'il existe à peine un danger de coagulation.

Avant d'examiner l'influence de la chaleur ou le traitement à la bentonite sur la protéine soluble du raisin, on signalera brièvement les modifications qui ont lieu pendant la fermentation et les méthodes classiques de vinification.

Selon que la protéine est précipitée par le sulfate d'ammonium ou bien isolée par ultrafiltration, elle peut être séparée en deux ou quatre fractions par électrophorèse sur papier. Si la protéine brute obtenue par ultrafiltration n'est pas utilisée rapidement dans les essais, on n'obtient également que deux fractions par électrophorèse. Une séparation des deux fractions principales en d'autres parties est possible par électrophorèse à haute tension (5), mais nous ne rendrons compte que des deux fractions principales.

Pendant la fermentation a lieu une coagulation, c'est-à-dire une floculation de la protéine. La fraction II est plus sensible à l'alcool que la fraction I (9).

La filtration sur des plaques filtrantes, également sur des plaques stérilisantes, ou sur terre d'infusoires, n'a pas d'effet sur la teneur en protéine. La centrifugation

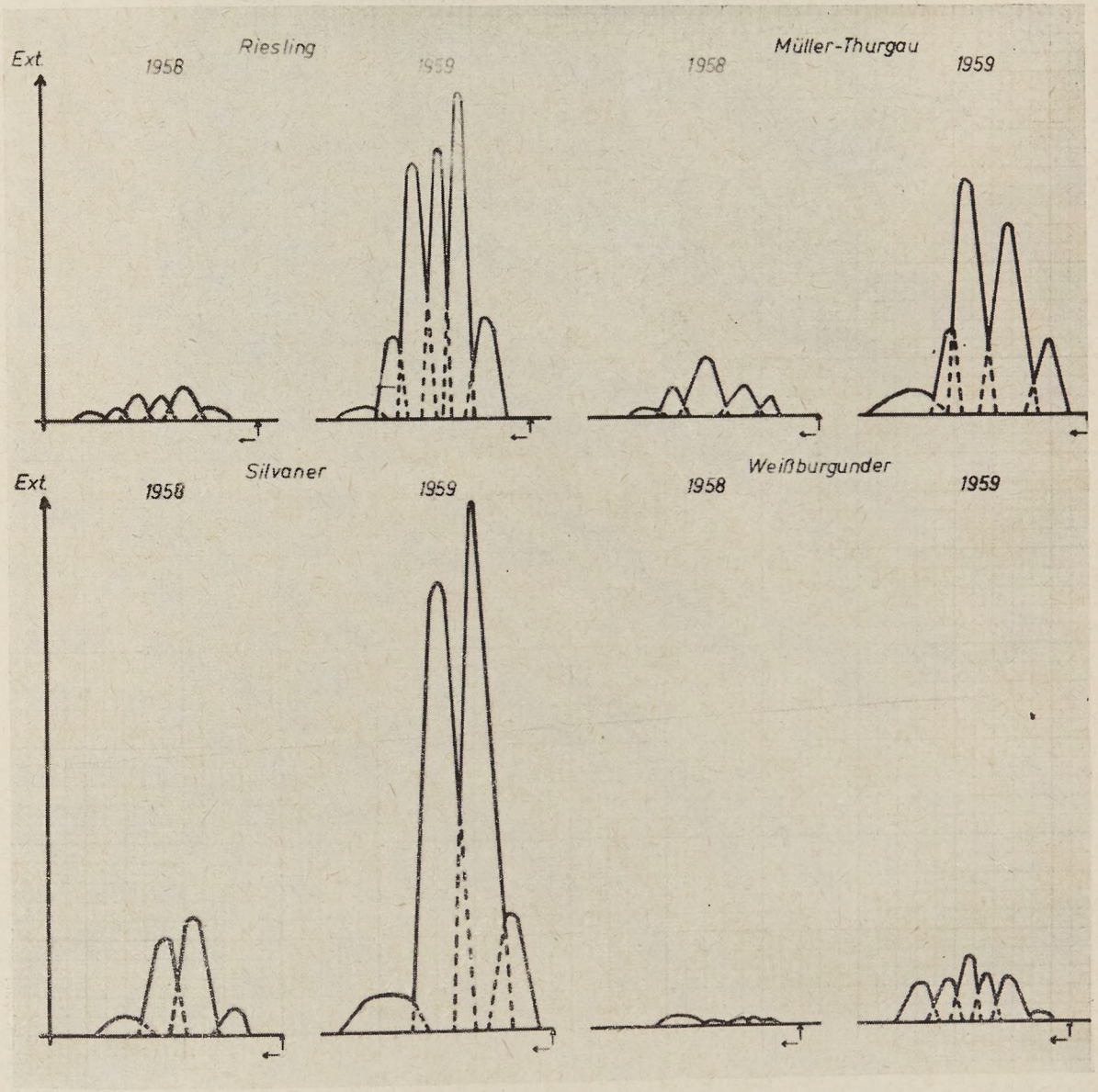


FIG. 9. — Teneur en protéine « soluble » de raisins de quatre cépages allemands en 1958 et en 1959 (enregistrement photométrique des phérogrammes).

avec les appareils utilisés habituellement dans la pratique ne produit également aucune modification de la protéine.

Chaque vin qui a été séparé de la lie de levures par soutirage contient moins de protéine que le moût dont il provient. Plus le vin séjourne dans son récipient et plus la teneur en protéine est réduite. La protéine précipitée par coagulation est le plus souvent accompagnée de matières pectiques, tanniques et minérales (10).

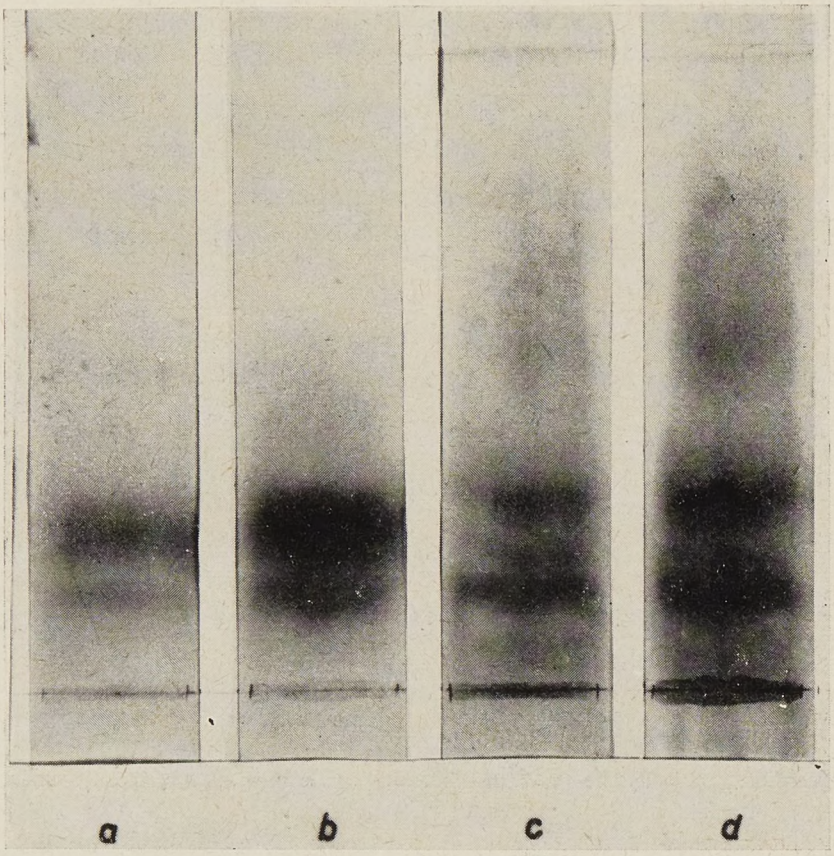


FIG. 10. — Phérogrammes des protéines solubles de raisin précipitables par le sulfate d'ammonium et isolées par ultrafiltration :

a et b : précipitation par le sulfate d'ammonium.

c et d : séparation par ultrafiltration.

Par coupage de divers vins apparemment stables, une nouvelle floculation de protéines peut avoir lieu (par suite d'une modification du pH), particulièrement lorsque le point isoélectrique et le pH deviennent très voisins à la suite du coupage.

La teneur du vin en substances minérales joue un rôle important dans la floculation de la protéine, à côté de la température. Le taux en matières minérales est habituellement très réduit (1 %), de telle sorte que le vin contenant peu de protéine montre un trouble opalescent après chauffage, sans qu'aucune coagulation n'intervienne.

Si l'on ajoute à un vin contenant de la protéine soluble 5 % d'une solution saturée de sulfate d'ammonium, la protéine précipite quantitativement au cours d'un chauffage prolongé à 45 °C (11). Cette réaction présente un processus s'accomplissant en deux phases. Dans la première s'effectue la dénaturation, dans la seconde la coagu-

lation dépendant de la teneur en électrolytes. Il s'agit ici d'une réaction du premier ordre (12).

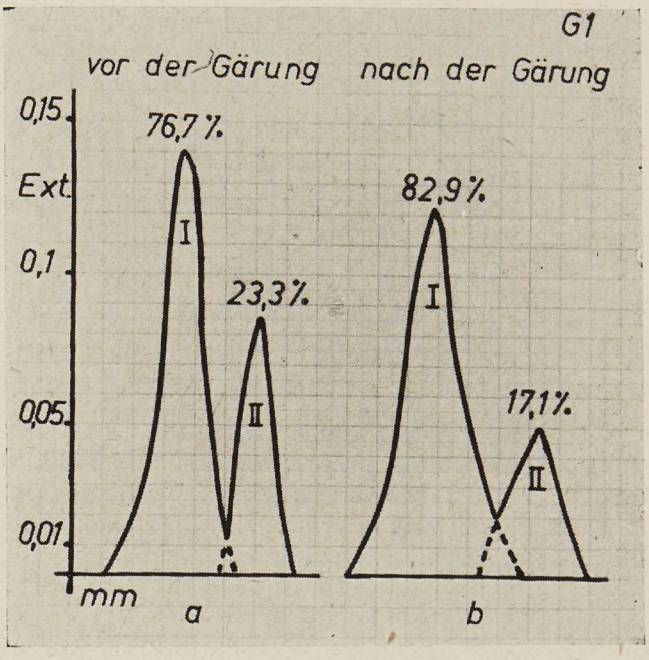


FIG. 11. — Influence de la fermentation sur la protéine de raisin : a = avant fermentation, b = après fermentation.

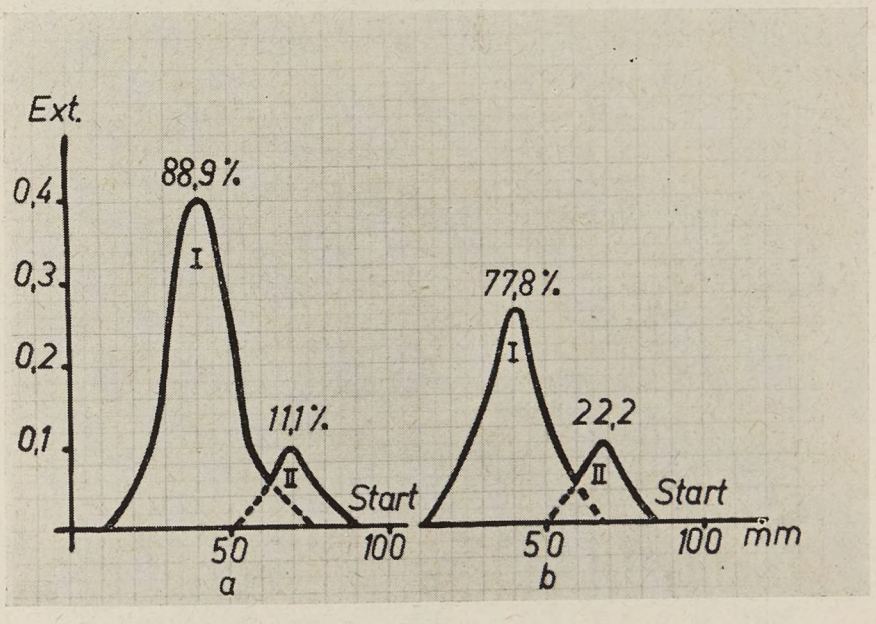


FIG. 12. — Influence du chauffage du vin sur la protéine de raisin.

Le point de coagulation pour la protéine de Riesling est situé entre 60 et 72 °C après l'addition de 25 % d'une solution saturée de sulfate d'ammonium et entre 65 et 75 °C après l'addition de 12,5 % de la solution.

	Fraction de protéine %			
	Avant chauffage		Après chauffage	
	I	II	I	II
W9	59,1	40,9	49,6	50,4
D1	84,5	15,4	79,5	20,4
J1	90,7	9,3	85,1	14,9
N1	88,9	11,1	77,8	22,2

FIG. 13. — Influence du chauffage sur les deux fractions de la protéine du vin.

Dans la pratique, dans les années normales, on peut obtenir une stabilisation des protéines si le vin est chauffé à 75 °C et maintenu à cette température pendant 2 mn par circulation dans un appareil échangeur de température à plaques. Mais ensuite il faut immédiatement ramener la température à celle de la cave. Comme il a été dit plus haut, des substances tanniques et matières pectiques sont précipitées avec la protéine. La protéine floculée possède la même composition que la protéine subsistant encore dans le vin. Dans les années riches en protéine, la teneur en protéine restant dans le vin après un bref chauffage peut être encore si élevée que, sous certaines conditions défavorables, il peut y avoir un nouveau trouble.

Par chauffage, on ne peut pas atteindre un rapport constant entre les deux fractions de protéine. Vraisemblablement la quantité de protéine contenue dans le vin est responsable du rapport entre les deux fractions. Mais il semble qu'il y ait une stabilité pratique des protéines, lorsque la proportion des fractions I/II atteint environ 1/3 à 3,5.

Comme dans certaines conditions le chauffage du vin a des effets désavantageux sur le goût, il vaut mieux obtenir le vin stable au point de vue protéine par chauffage du moût (13). Le moût doit être chauffé et maintenu pendant 2 mn à la température de 87 °C. La fermentation du moût doit être provoquée alors par une addition de levures, de préférence à l'aide d'un moût en fermentation qui n'a pas été chauffé (14).

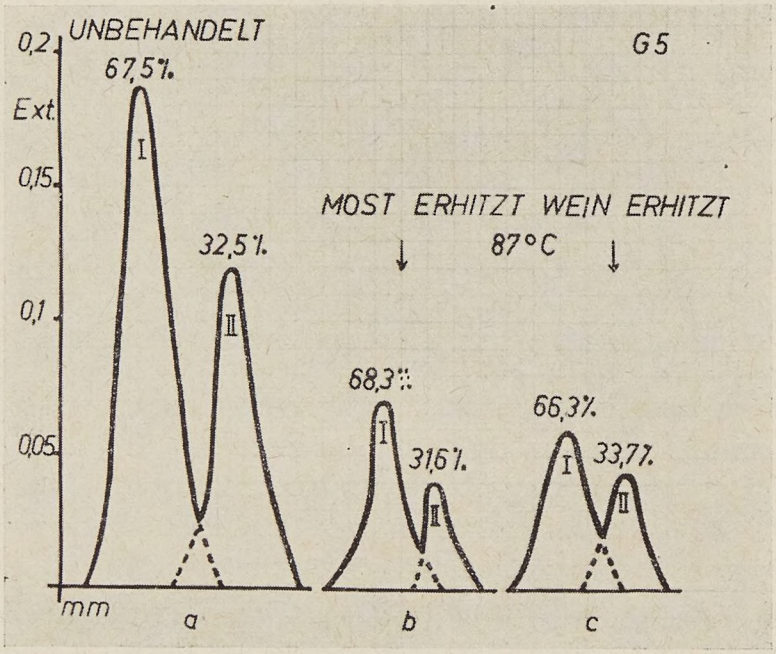


FIG. 14. — Comparaison du chauffage du moût et du vin.

Si l'on compare le chauffage du moût à celui du vin, on voit que les vins qui ont déjà été chauffés en tant que moûts sont pratiquement stables, bien qu'ils contiennent plus de protéines que les vins chauffés. La quantité de chaleur nécessaire à la dénaturation et à la coagulation de la protéine est encore inconnue. Elle dépend du pH, du taux de matières minérales et sûrement d'autres facteurs encore. Pour la dénaturation de l'albumine d'œuf, on indique qu'une quantité de chaleur de 130 000 calories par mol est nécessaire. Dans la pratique, l'indication d'un chiffre n'a cependant aucune valeur, car en général on ne connaît pas le contenu du vin en protéine avant le chauffage. Toutefois, par chauffage du moût et du vin pendant les années « normales », on obtient des vins pratiquement stables au point de vue protéines, ce qui est, pour beaucoup de raisons, d'une grande importance pour les entreprises.

Après qu'il a pu être montré qu'une dénaturation partielle de la protéine de raisin, conduisant en général à une stabilité pratique de la protéine, a lieu par chauffage du moût et du vin, il faut étudier à présent l'influence d'un traitement à la bentonite sur les deux fractions.

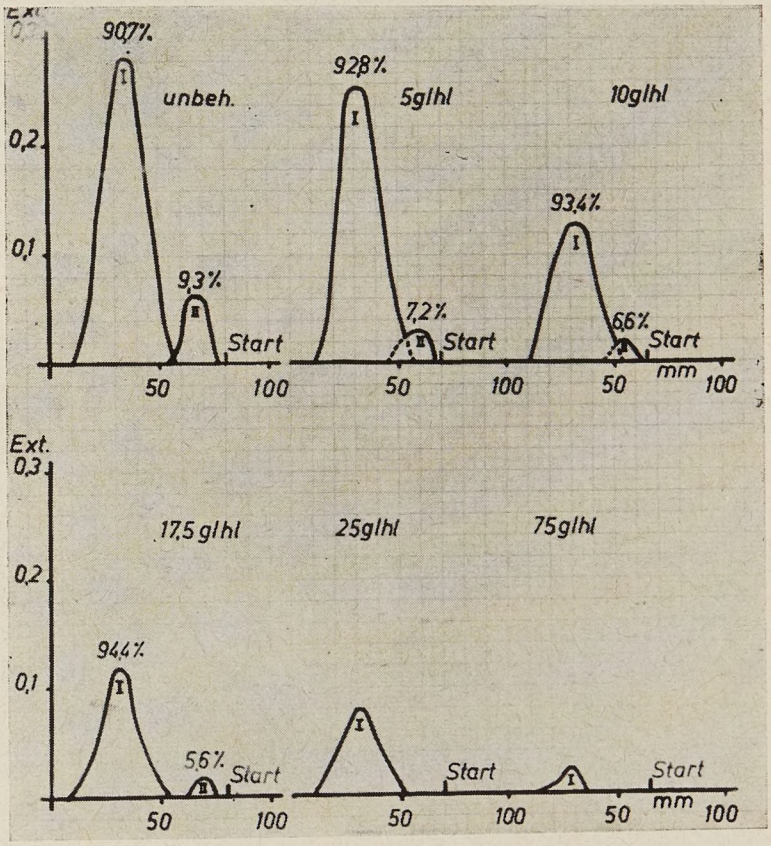


FIG. 15. — Influence du traitement d'un vin à la bentonite sur la protéine de raisin.

Comme le montre la figure 15, une adsorption des deux fractions de protéine a lieu grâce à ce traitement. Comme la fraction II est présente en concentration inférieure à celle de la fraction I, c'est elle qui est éliminée du vin ou du moût la première. Par des additions relativement élevées de bentonite, on peut obtenir des vins ou des moûts entièrement exempts de protéine.

On peut donc constater que le traitement du vin ou du moût par chauffage mène pratiquement à la stabilité protéique, mais en laissant encore des protéines dans les produits, tandis que les vins correctement traités à la bentonite se montrent dépourvus de protéine. Peut-être ce fait est-il l'une des raisons expliquant que les vins traités par chauffage ont un goût plus plein que ceux traités à la bentonite.

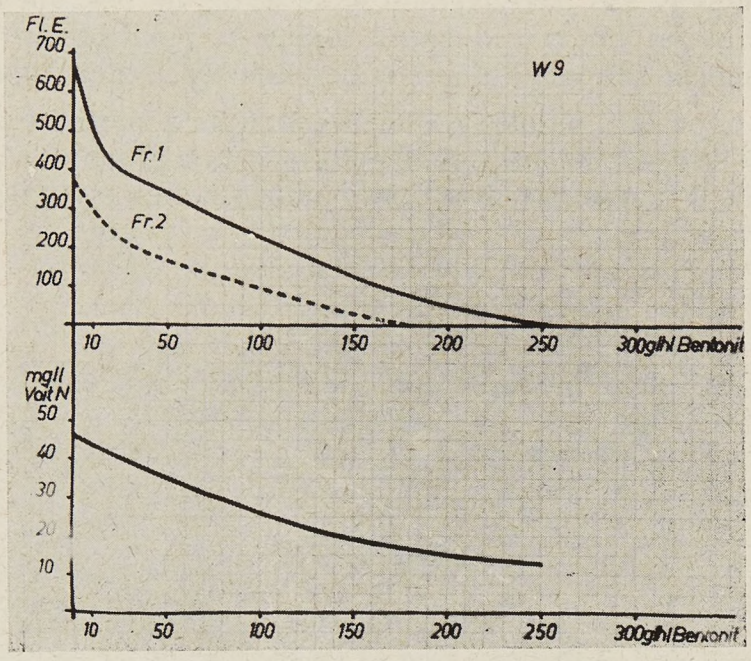


FIG. 16. — Aperçu sur la diminution des deux fractions de protéine et de l'azote Voit sous l'influence de quantités croissantes de bentonite.

Le succès d'un traitement à la bentonite ne peut être contrôlé par la détermination de l'azote Voit (10), (azote du vin précipitable en milieu alcoolique à 75 % et en présence de sulfate d'ammonium), car la figure 16 montre que le traitement à la bentonite élimine toutes les protéines sans que l'azote Voit atteigne la valeur zéro.

Il a été prouvé de cette façon que l'azote Voit ne se compose pas uniquement de protéine et qu'en multipliant cette valeur par 6,25 on ne peut aucunement obtenir la teneur en protéine.

Les différentes bentonites adsorbent les deux fractions de protéine avec des intensités différentes. Il y a des bentonites qui ont un effet sélectif sur une fraction, par exemple qui adsorbent davantage la fraction II que la fraction I. Cela est démontré par l'exemple de la figure 17.

La figure 18 indique également les effets différents des bentonites. Il est montré l'effet de cinq bentonites à des concentrations différentes sur les deux fractions de protéine.

Le technicien sait que les bentonites sont diversement efficaces. Il s'agit ici de montrer que les bentonites qui adsorbent le mieux les protéines sont celles qui se gonflent le plus. Malheureusement, cette qualité est un désavantage pour leur emploi, car elles sont très difficiles à enlever du vin.

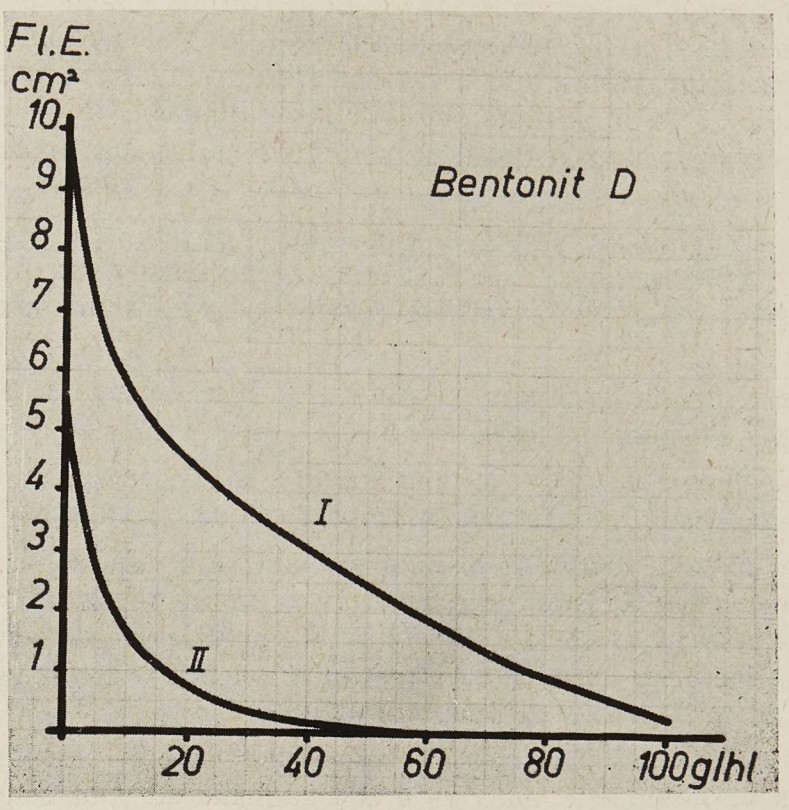


FIG. 17. — Courbes d'adsorption des fractions de protéine I et II pour une bentonite à effet sélectif.

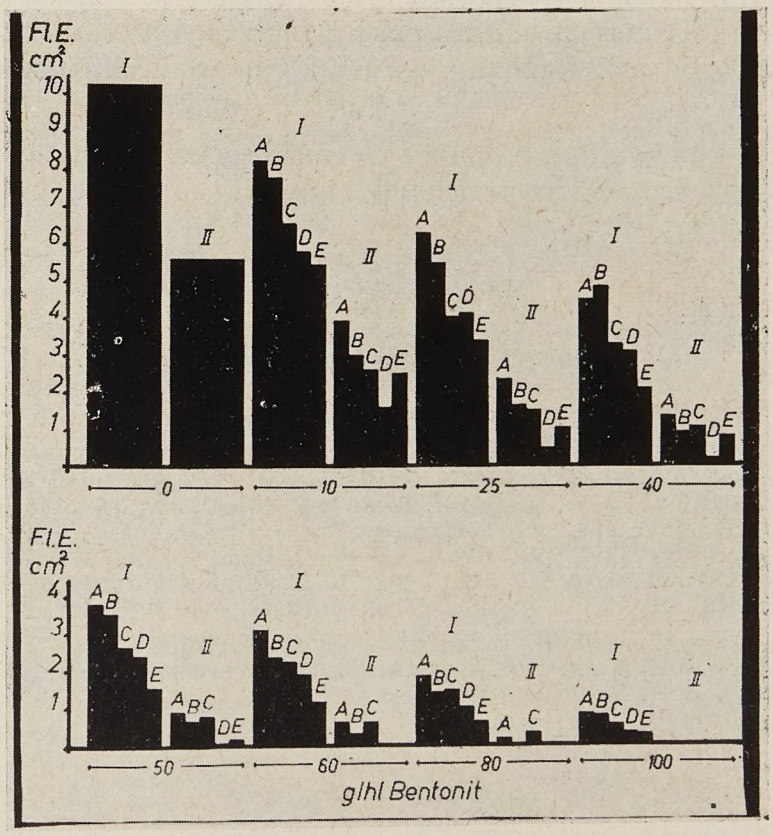


FIG. 18. — Aperçu général sur l'influence de différentes bentonites sur les deux fractions de protéine.

L'efficacité de chaque traitement à la bentonite doit être examinée, d'après ce qui a été dit, à l'aide d'un test de chauffage pour voir s'il y a encore une fraction de protéine. En général c'est la fraction I, instable à la chaleur, qui reste dans le vin après un traitement insuffisant à la bentonite. Il faut donc examiner sa présence, ce qui n'est possible de façon parfaite que lorsqu'on augmente la concentration en sel dans le vin à examiner. Nous avons déjà mentionné un test sûr pour la recherche des protéines (11).

Pour cela, on ajoute au vin 5 % d'une solution de sulfate d'ammonium saturée et on chauffe 100 ml pendant 9 h, à l'étuve à 45 °C. Ensuite, on plonge le récipient dans de l'eau glacée et, après 15 mn, on examine s'il y a eu une précipitation ou un trouble.

Ce n'est que lorsque ce test est négatif qu'on peut considérer le traitement à la bentonite comme couronné de succès.

Répétons-le encore une fois : les vins traités à la bentonite sont exempts de protéines et par conséquent préservés dans tous les cas des troubles dus aux protéines.

D'après ce qui a été démontré jusqu'ici, nous voyons que les protéines présentes dans le vin proviennent du moût et que certaines années lorsque leur concentration est élevée, elles peuvent causer des difficultés au point de vue technique. A l'aide de traitements par chauffage ou bien à la bentonite, on peut obtenir des vins aux protéines stables, ou bien privés de toutes protéines.

Nous ne voulons pas exprimer une préférence envers l'une ou l'autre de ces deux méthodes de traitement, mais qu'il soit souligné en conclusion que le traitement par chauffage en tant que procédé physique n'introduit aucun corps étranger dans le vin et mène à des vins stables pour les années « normales ». Pour les années riches en protéine, un traitement uniquement par chauffage n'est pas toujours suffisant. Quant au traitement à la bentonite il n'a pas pu être évité au cours des recherches actuelles que certaines substances minérales soient introduites dans le vin modifiant ainsi le tableau analytique. Les protéines peuvent cependant être éliminées totalement.

En conclusion, je voudrais remercier ici tous mes collaborateurs, qui ont accompli les travaux qui ont été ici seulement esquissés.

Références bibliographiques

(1) J. Koch et H. Schwahn. *Zeits. Lebens. Unters. Forsch*, 1957, **107**, 20. (2) J. Koch, H. Freter et E. Sajak. *Ibid*, 1959, **109**, 395. (3) W. Diemair, J. Koch et E. Sajak. *Ibid*, 1962, **116**, 318. (4) W. Diemair, J. Koch et E. Sajak, *Ibid*, 1962, **116**, 5. (5) W. Diemair, J. Koch et Sajak. *Ibid*, 1962, **116**, 209, 216. (6) W. Diemair, J. Koch et E. Sajak. *Ibid*, 1962, **116**, 7. (7) W. Diemair, J. Koch et E. Sajak. *Ibid*, 1962, **116**, 327. (8) J. Koch et E. Sajak. *Weinberg u. Keller*, 1963, **10**, 35. (9) J. Koch et H. Schwahn. *Zeits. Lebens. Unters. Forsch*, 1958, **107**, 20. (10) J. Koch et G. Bretthauer. *Ibid*, 1957, **106**, 272.

(11) J.Koch et E. Sajak. *Weinberg u. Keller*, 1961, **8**, 152. (12) J. Chick et C. J. Martin, *Koll. Beihefte*, 1913, **5**, 469. (13) J. Koch et G. Bretthauer. *Zeits. Lebens. Unters. Forsch*, 1957, **106**, 361, (14) J. Koch. *Weinberg u. Keller*, 1956, **3**, 49.

Résumé

Les recherches sur la maturation de deux cépages allemands et l'étude d'un grand nombre de jus de raisins allemands, français et italiens ont montré que les jus de raisins contenaient toujours une protéine soluble. La teneur en protéine dépend du cépage, de la maturité, des conditions atmosphériques et de la fumure. La séparation des protéines du raisin par électrophorèse montre qu'il existe une constitution spécifique du cépage. Comme le traitement du jus de raisin avec les enzymes pectolytiques augmente la teneur en protéine, on peut admettre que la protéine soluble est liée aux substances pectiques.

L'analyse de la protéine de Riesling montre qu'il s'agit d'une glucoprotéine, contenant dix-huit aminoacides. Les sucres représentent environ 5 % du poids de la protéine et comprennent sept sucres différents. La protéine de raisin a les caractères d'une globuline. Le point isoélectrique se trouve dans quelques cépages entre pH 3,3 et 4,0.

Les fractions principales de la protéine séparée par électrophorèse ont un comportement différent suivant les traitements des vins. Dans les années normales, un court chauffage conduit à la stabilité protéique du vin, alors que souvent elle peut ne pas être atteinte dans les années riches en protéines, car le trouble à la chaleur ne dépend pas seulement de la quantité de protéine, mais aussi de son point isoélectrique et du pH du vin.

Par une addition suffisante de bentonite les vins peuvent être complètement débarrassés de protéine. L'efficacité des différentes bentonites est variable. Pour cette raison le traitement à la bentonite doit être suivi d'un test de recherche des protéines.

PROTEINS OF WINES
TREATMENT OF PROTEINIC PRECIPITATIONS BY MEANS OF HEATING AND WITH BENTONITE

J. KOCH

Summary

A soluble protein, specific to the grape vine, is to found in the juice of ripe grapes. It belongs to the globulin type but contains 5 % of sugar. It is linked to the soluble pectin. It can be precipited out with ammonium sulphate or by ultrafiltration and it can be separated by electrophoresis into several fractions which migrate to the anode.

The author first examines the constitution of the protein of the grape (aminoacids, sugar). He then considers the conditions affecting the amount of soluble proteins (maturity state, variety of vine, vinification, alcoholic fermentation), and those which govern the phenomena of floculation (particularly pH of wine and isoelectric point of the protein).

For normal protein contents, a stabilization against protein turbidities can be obtained through heating the wine at a temperature of 75 °C or through heating the must at 82 °C for 2 mn. In these cases, it is fraction I of the protein which is coagulated by heat. However, in years of high proteins content, this treatment may be insufficient. On the other hand bentonite adsorbs in an identical manner the two main fractions of the protein and make it possible to obtain musts or wines totaly deprived of them.

In short, it can be said, with regard to the action of these two treatments, that heating stabilizes wines without a complete elimination of proteins, while bentonite adsorbs them entirely.

DIE PROTEINE DER WEISSWEINE
BEHANDLUNG DER EIWEISSTRÜBUNG DURCH WÄRME UND BENTONIT

J. KOCH

Zusammenfassung

Die Reifeuntersuchungen an zwei deutschen Traubensorten und die Prüfung einer grossen Anzahl deutscher, französischer und italienischer Traubensäfte zeigen, dass das « lösliche » Protein im Traubensaft immer vorhanden ist. Die Eiweissmenge hängt von der Rebsorte, der Reife, der Wit-

terung und der Düngung ab. Durch die elektrophoretische Auftrennung des Traubenproteins kann eine Sortenspezifität nachgewiesen werden. Da die Fermentierung des Traubensaftes mit pektinspaltenden Enzymen zu eine Erhöhung des Eiweissgehaltes im Saft führt, ist anzunehmen, dass das « lösliche » Protein an Pektinstoffe gebunden ist.

Die Analyse des Riesling-Proteins zeigt, dass es sich um ein Glucoprotein handelt, das aus 18 Aminosäuren aufgebaut ist. In dem Zuckeranteil von ca. 5 % können 7 Zucker nachgewiesen werden. Das Protein zeigt globulinähnlichen Charakter. Der isoelektrische Punkt liegt bei den einzelnen Rebsorten zwischen pH 3,3 und 4,0.

Die durch Elektrophorese aufgetrennten Hauptfraktionen des Proteins zeigen bei den verschiedenen kellertechnischen Behandlungen ein unterschiedliches Verhalten. Eine Kurzzeiterhitzung führt in « normalen » Jahren zu einer praktischen Eiweissstabilität des Weines, während diese in eiweissreichen Jahren manchmal nicht ausreicht, da die Eiweisstrübung nicht nur von der Menge, sondern auch vom isoelektrischen Punkt des Proteins und vom pH-Wert des Weines abhängt.

Durch entsprechend hohe Bentonitgaben können völlig eiweissfreie Weine erhalten werden. Die Wirksamkeit der einzelnen Bentonite ist underschiedlich. Deshalb ist nach der Bentonitbehandlung ein Eiweisstest durchzuführen.

PROTEINE DEI VINI BIANCHI TRATTAMENTO DELLE PRECIPITATIONI PROTEICHE PER RISCALDAMENTO E CON LA BENTONITE

J. KOCH

RIASSUNTO

Le ricerche sulla maturazione di due varietà di uve tedesche e lo studio di un grande numero di succhi di uva tedeschi, francesi ed italiani hanno mostrato che i succhi d'uva contengono sempre una proteina solubile. Il tenore in proteine dipende dalla varietà, dalla maturità, dalla condizioni atmosferiche e dalla concimazione. A mezzo della separazione elettroforetica delle proteine dell'uva si e potuto dimostrare une specificita della varietà. Dato che il trattamento del succo d'uva con gli enzimi pectolitici aumenta il tenore in proteina, si puó ammettere che la proteina solubile è legata alle sostance pectiche.

L'analisi della proteina del Riesling mostra che si tratta di una glucoproteina, contenente diciotto aminoacidi. Gli zuccheri rappresentano circa 5% del peso della proteina e comprendono sette zuccheri differenti. La proteina d'uva ha i caratteri di una globulina. Il punto isoelettrico si trova in alcune varietá tra pH 3,3 et 4,0.

Le frazioni principali della proteina separate per elettroforesi hanno un comportamento differente secondo i trattamenti dei vini. Nelle annate normali, un breve riscaldamento conduce alla stabilitá proteica del vino, che spesso non puó essere raggiunta nelle annate ricche in proteine, perchè gli intorbidamenti al calore non dipendono solamente dalla quantità di proteina, ma anche dal suo punto isoelettrico e dal pH del vino.

Mediante un' aggiunta sufficiente di bentonite i vini possono essere completamente privati di proteine. L'efficacia delle differenti bentoniti è variabile. Per questa ragione il trattamento alla bentonite deve essere seguito da una prova di ricerca celle proteine.

PROTEINAS DE LOS VINOS BLANCOS TRATAMIENTO DE LAS PRECIPITACIÓNES PROTEICAS POR CALENTAMIENTO Y CON AYUDA DE BENTONITA

J. KOCH

RESUMEN

Una proteina soluble, especifica de la cepa, se encuentra presente en el jugo de uvas maduras. Pertenece al tipo de la globulina, pero contiene 5 % de azucares. Está ligada a la pectina soluble. Puede ser aislada por precipitación con ayuda de sulfato de amonio o por ultrafiltración y puede ser separada por electroforesis en varias fracciones, desplazandose hacia el ánodo.

El autor estudia primeramente la constitución de la proteina de uva (aminoacido, azúcares). Considera en seguida los condiciones que influyen soble la proporción de proteina soluble (estado de madurez naturaleza de la cepa, vinificación, fermentación alcohólica), y las que dirigen los fenómenos de floculación (principalmente pH de los vinos y punto isoélectrico de la proteina).

Para contenidos normales en proteinas, se puede obtener una estabilización con respecto a las turbideces proteicas, por calentamiento del vino a 75 °C o del mosto a 87 °C durante 2 minutos. La fracción I de la proteina es la que se coagula. En los años ricos en proteinas, este tratamiento puede no ser suficiente sin embargo. Por el contrario, la bentonita adsorbe idénticamente las dos fracciones principales de la proteina y permite obtener mostos o vinos completamente desprovistos de ella.

Para resumir el efecto de estos dos tratamientos, se puede decir que el calentamiento estabiliza los vinos sin eliminar completamente las proteinas, mientras que la bentonita las adsorbe integralmente.

DISCUSSION

M. SCHNEYDER (Vienne, Autriche) : 1) Quelle quantité maximale de protéines solubles avez-vous trouvée dans les vins? Le cépage Traminer donne-t-il d'après vos observations les quantités les plus élevées ? 2) Les différentes bentonites ont-elles des effets spécifiques sur les diverses fractions de protéines ?

Réponse : 1) Les quantités maximales observées vont jusqu'à 170 - 180 mg par litre. 2) L'effet des bentonites a été étudié sur les vins de Riesling ; elles agissent sur les deux principales fractions des protéines solubles, mais elles ne les adsorbent pas de la même façon ; la fraction II étant présente en concentration inférieure est éliminée la première.

PRÉVENTION DES TROUBLES PROTÉIQUES DU VIN PAR L'EMPLOI DE BENTONITE DANS LE MOÛT

D. MILISAVLJEVIC

Faculté de Technologie, Novi-Sad (Yougoslavie)

Tous les moûts contiennent une quantité plus ou moins grande de protéines qui dépend du cépage et des conditions de végétation de la vigne. Une partie de ces substances est insolubilisée ou décomposée au cours de la fermentation alcoolique. Pour les vins rouges, riches en tanin, ces processus conduisent le plus souvent à une disparition complète des protéines. Pour les vins blancs cependant ce n'est pas le cas, et ces vins contiennent pour ainsi dire toujours une quantité importante de protéines.

Les protéines jouent un grand rôle dans la limpidité des vins. Elles se trouvent dans le vin en solution colloïdale et, dans des conditions déterminées, peuvent troubler le vin par leur coagulation, et provoquent ainsi le trouble protéique ou casse protéique. Le processus de la coagulation et de la sédimentation des protéines est dans les fûts un processus lent et peut durer des années. Cependant les conditions économiques imposent — ce qui convient au goût du consommateur — de mettre sur le marché des vins jeunes. Mais dans ces vins apparaît tôt ou tard, après la mise en bouteilles, le précipité protéique qui altère la présentation du vin. C'est pourquoi se pose le problème du traitement préventif des troubles protéiques.

Méthodes de traitement préventif des troubles protéiques du vin

Ce traitement peut être exécuté soit par la précipitation des protéines, soit par leur hydrolyse enzymatique dans le vin.

Les ferments protéolytiques décomposent les protéines en produits thermostables et pourraient être utilisés pour la stabilisation du vin. Cependant ces ferments ne peuvent trouver une application pratique, car ils exigent une température relativement élevée pour être efficaces, de 45 à 50 °C, c'est-à-dire qu'ils nécessitent le chauffage du vin, opération onéreuse et peu pratique. Du reste, le chauffage du vin pour précipiter les protéines a été proposé par Laborde déjà en 1904, mais à cause des raisons citées, il a été peu appliqué dans la pratique, bien qu'il se soit montré très efficace.

Le refroidissement du vin jusqu'au voisinage de son point de congélation ne donne pas de résultats satisfaisants, car par ce procédé on élimine seulement une fraction des protéines. Une précipitation partielle des protéines est atteinte par d'autres procédés également, comme par exemple le collage bleu. Parmi les produits œnologiques qui agissent à température normale, seuls les silicates d'aluminium hydratés peuvent provoquer une précipitation totale des protéines.

J. Ribéreau-Gayon (16) a montré le premier que le kaolin, un silicate d'aluminium hydraté, adsorbe les protéines du vin et constitue un bon moyen préventif pour le traitement des casses protéiques. La quantité de kaolin nécessaire est assez élevée, de l'ordre de 500 g par hectolitre, et c'est là l'inconvénient principal de ce procédé. Deux ans plus tard, en 1934, Saywell a recommandé aux Etats-Unis le traitement du vin par la bentonite, qui est aussi un silicate d'aluminium hydraté, mais d'un pouvoir adsorbant beaucoup plus grand. J. Ribéreau-Gayon (17) a analysé ce travail et a fait la première publication sur la bentonite en Europe. Verdino (23) a, deux ans plus tard, examiné la valeur du Coagol (nom commercial d'une bentonite), faisant remarquer que le Coagol est composé de kaolin finement pulvérisé et de matières organiques, ce qui était, on le comprend, une erreur.

L'utilisation de la bentonite comme moyen œnologique s'est répandue en Europe seulement après la deuxième guerre mondiale surtout après la première édition du Traité d'œnologie de J. Ribéreau-Gayon, où sont données toutes les explications théoriques et pratiques sur la bentonite.

Traitement préventif des troubles protéiques par l'addition de bentonite dans le moût

Dans la période d'après-guerre, un grand nombre de travaux sur ce sujet ont été publiés. Ribéreau-Gayon et Peynaud (15) en ont donné les références. Tous les travaux cités se rapportent au traitement du vin fait, et tous les auteurs sont d'accord pour trouver que la bentonite représente le meilleur moyen pour éviter les troubles protéiques des vins.

La bentonite a seulement l'inconvénient de former dans le vin un grand volume de dépôt. D'un autre côté, elle doit être mélangée au vin rapidement et uniformément, ce qui n'est pas facile à réaliser quand il s'agit d'une grande quantité de vin. Enfin l'addition de bentonite provoque une certaine oxydation du vin, qui altère sa qualité, ce qui est regrettable, surtout pour les vins fins et les vins à arôme musqué.

C'est pourquoi l'idéal serait de pouvoir appliquer les traitements au moût pour obtenir immédiatement un vin limpide et stable. A ce propos, nous avons, depuis 1951, examiné la possibilité de l'emploi de la bentonite dans le moût, c'est-à-dire avant la fermentation. Les résultats de nos premières expérimentations, qui ont été communiqués au VIIIe Congrès international de la vigne et du vin à Santiago du Chili (10), ont montré que la bentonite empêche sûrement l'apparition de la casse protéique, également quand elle est ajoutée au moût ; cela a été confirmé aussi par nos expériences postérieures (13). Au même Congrès, Maveroff (9) a communiqué que, en Argentine, Deis et Robello, après une expérimentation réussie, ont recommandé l'emploi de la bentonite dans le moût ; en outre, selon ces auteurs, on obtient en plus une amélioration de la qualité du vin.

Nilov (14) a constaté que la bentonite adsorbe les oxydases du moût et que de cette façon ces ferments peuvent être éliminés du moût. D'après cet auteur les fer-

ments adsorbés conservent leur activité et peuvent, dans des conditions déterminées, être élués. NILOV recommande la clarification du moût par la bentonite, surtout quand il provient de raisins pourris et gâtés, et est, par conséquent, riche en oxydases.

ZINTCHENKO (24) a également constaté que la bentonite adsorbe les oxydases et la conséquence en est une moindre oxydation du moût : le moût traité ne change pas de couleur au contact de l'air, tandis que le moût non traité prend la couleur du thé fort. Cet auteur recommande également l'élimination des oxydases du moût par l'emploi de la bentonite surtout les années de grande pourriture du raisin.

SISSAKIAN et collaborateurs (20) ont étudié l'application de la bentonite dans la champagnisation en bouteilles et constaté que la bentonite a une action favorable sur le goût des vins mousseux.

LITCHEV et NIKOVA (8) ont aussi donné un apport important à la question de l'utilisation de la bentonite au cours de la fermentation. Ces auteurs ont effectué la fermentation en présence de 1 à 8 g par litre de bentonite et ont constaté que la bentonite ne gêne pas les levures, ne change pas la composition du vin, élimine efficacement les protéines et facilite la filtration du vin jeune.

DASKALOV et RANGUÉLOVA (3), se rapportant au travail de NILOV (14), recommandent de traiter le moût à la bentonite avant la fermentation pour adsorber les oxydases et accélérer le débourbage ; cependant ils ne recommandent pas de laisser la bentonite dans le moût au cours de la fermentation, car ils considèrent que, au cours de ce processus, se produit l'élution des oxydases adsorbées.

RECHERCHES PERSONNELLES

Grâce aux nombreuses recherches effectuées, on peut dire que le comportement de la bentonite dans le vin est connu. Cependant il existe seulement quelques travaux (8, 9, 10, 13) à notre connaissance, sur le comportement de la bentonite dans le moût. Quand on l'ajoute au moût et qu'on l'y laisse au cours de la fermentation, la bentonite ne se trouve pas dans les mêmes conditions que lorsqu'elle est ajoutée au vin. Non seulement les conditions physiques, par exemple de température, ne sont pas les mêmes dans le moût, mais aussi les conditions physico-chimiques (pH, rH), chimiques (sucre, tartrates) et biologiques (levures). D'un autre côté la bentonite fixe les protéines et les ferments, et vraisemblablement d'autres composés, ce qui pourrait avoir une influence déterminée sur le cours de la fermentation alcoolique comme sur d'autres processus.

Dans nos expérimentations, nous avons utilisé la bentonite américaine (Wyoming) et la bentonite yougoslave (Klarol) qui, par ses caractéristiques, est semblable à la bentonite américaine. Ces deux bentonites appartiennent au type I, décrit par RIBÉREAU-GAYON dans la première édition de son Traité d'œnologie. Pour ce qui est des doses, nous avons toujours employé 100 g par hectolitre, sauf dans certains cas indiqués plus loin.

ACTION DE LA BENTONITE SUR LE COURS DE LA FERMENTATION ALCOOLIQUE

Moût de raisin sain. — Les nombreux essais ont montré, et on peut le voir sur le tableau 1, que la bentonite ne gêne en rien le travail des levures ; au contraire, on pourrait dire plutôt qu'elle l'active, car toujours les variantes moût + bentonite fermentent plus vite et plus complètement que le témoin. L'action favorable de

la bentonite sur la fermentation se manifeste encore plus clairement dans la fermentation du moût clair, ce qui correspond aux travaux de KOMAROVA (7), SCHANDERL (19), SCHMITTHENNER (21). Il s'agit de l'influence des particules solides sur le dégagement plus rapide du gaz carbonique et sur la meilleure répartition des levures dans la masse du moût (fixées sur des particules solides, les levures sont portées pendant la fermentation tumultueuse dans toute la masse du moût) et les conditions d'alimentation et de multiplication sont meilleures (le moût trouble contient toujours un plus grand nombre de cellules de levures).

TABLEAU 1

Action de la bentonite sur la fermentation alcoolique

Jours	Dégagement du CO_2 (g pour 600 ml)			
	Moût de raisin sain		Moût de raisin pourri	
	Témoin	+ Bentonite	Témoin	+ Bentonite
1	10	10	0	2
2	35	39	22	32
3	52	57	44	54
4	59	65	56	64
5	63	68	60	66
6	65	68	62	68

Moût de raisin pourri. — Dans le tableau 1 on montre également l'influence de la bentonite sur la fermentation du moût de raisin pourri (botrytisé). Là aussi, la bentonite a une action favorable sur la levure et sur la fermentation : dans les variantes moût + bentonite la fermentation a commencé un jour plus tôt et a poussé plus loin son action. Ce fait s'explique par l'adsorption des matières antibiotiques sécrétées par la moisissure (botryticine).

La bentonite adsorbe également d'autres antibiotiques qui pourraient se trouver dans le moût. En 1954, nous avons montré (11) qu'une souche de *Penicillium expansum (P. glaucum)* cultivée dans le moût produit une quantité relativement grande d'antibiotique expansine (patuline, claviformine), et un tel moût ne peut pas fermenter. Si on ajoute au moût de la bentonite, la fermentation apparaît et se développe presque normalement.

Les moûts obtenus de vendanges coîtrées (rot blanc ou *Coniothyrium diplodiella)* contiennent, semble-t-il, aussi des substances antibiotiques, car eux aussi fermentent beaucoup mieux en présence de bentonite.

ACTION DE LA BENTONITE SUR LA COMPOSITION, LA STABILITÉ ET LA QUALITÉ ORGANOLEPTIQUE DU VIN

Action sur la composition du vin. — Pour étudier cette question, nous avons fait une dizaine d'essais avec des moûts de différents cépages. Nous en avons communiqué les premiers résultats au Congrès du Chili (10). Nous exposons ici les résultats de la vendange de 1958.

TABLEAU 2

Action de la bentonite sur la composition et sur la stabilité du vin

	Slankamenka		Riesling		Bouvier	
	Témoin	+ Bentonite	Témoin	+ Bentonite	Témoin	+ Bentonite
Analyse du 23-1-1959						
Alcool, vol. %	11,74	11,64	14,23	14,12	14,77	14,52
Extrait, g/l	16,7	15,4	19,6	18,3	22,4	21,9
Acidité totale, g/l	4,0	3,8	5,8	5,6	4,4	4,1
Acide malique	+	—	+	+	+	+
pH	3,38	3,40	3,12	3,12	3,67	3,70
Cendres, g/l	1,50	1,46	1,23	1,30	1,64	1,67
Alcalinité des cendres	15,6	15,4	14,4	14,0	16,0	15,4
Fer, mg/l	2,5	2,0	7,0	8,0	2,5	2,0
Stabilité à 80 °C	—	+	—	+	—	+
Analyse du 18-12-1959						
Acide malique	—	—	+	+	—	—
Stabilité à 80 °C	—	+	—	+	—	+

Ces résultats, et d'autres encore, montrent que la bentonite ne change pas sensiblement la composition du vin. Au point de vue chimique, l'action de la bentonite se manifeste le plus sensiblement dans la neutralisation d'une partie de l'acidité de titration (comme dans le vin), mais l'acidité réelle reste pratiquement inchangée.

Considérant que la bentonite précipite les matières protéiques et clarifie rapidement le vin, on pourrait supposer qu'elle influe par là négativement sur le développement des bactéries malolactiques. Les essais effectués n'ont pas confirmé cette supposition. Sur le tableau 2 on voit que la fermentation malolactique a lieu plus tôt chez les vins provenant de moût traité que chez les vins provenant du moût témoin. Cela s'est confirmé à l'occasion d'autres essais effectués à des fins variées. Cela pourrait s'expliquer par le fait que la bentonite adsorbe au cours de la fermentation alcoolique les matières antibiotiques sécrétées par les levures et qui pourraient nuire aux bactéries. Dans un travail antérieur (12) nous avons montré que certaines races de levures de vin ont une action inhibitrice manifeste sur la fermentation malolactique. RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD (15) indiquent que les substances antibiotiques existent dans tous les moûts, même dans ceux provenant de raisins parfaitement sains. Il est possible que la bentonite précipite également ces sortes d'antibiotiques.

Les acides aminés sont indispensables au développement des bactéries ; la bentonite ne les adsorbe pas, comme l'ont montré BÖHRINGER et DÖLLE (2).

Action sur la stabilité du vin. — Les traitements du moût ont toujours donné des vins parfaitement stables à 80 °C, tandis que les vins témoins ont toujours montré à cette température un trouble intense. D'après le tableau 2 on voit que ces vins se sont troublés également pendant le deuxième essai (18-XII-1959), c'est-à-dire après 15 mois de conservation. Nous concluons que la bentonite est efficace non seulement quand on l'ajoute au vin, mais aussi quand on l'ajoute au moût et qu'on l'y laisse au cours de la fermentation. Nous verrons plus tard que le traitement du moût n'exige pas une plus forte dose de bentonite que le traitement du vin.

Action sur les qualités organoleptiques. — Les vins qui ont fermenté avec de la bentonite se caractérisent par une clarification spontanée très rapide. Déjà après le deuxième soutirage, et après la précipitation du tartre, ils obtiennent une limpidité cristalline. Les vins témoins, comme nous l'avons dit, restent troubles ou opalescents pendant des mois.

Quand on traite le vin fait, il peut prendre une odeur qui, suivant la qualité de la bentonite, rappelle plus ou moins l'odeur de terre ; cela n'arrive jamais quand on ajoute la bentonite au moût, car l'odeur éventuelle de la bentonite disparaît avec le gaz carbonique au cours de la fermentation alcoolique. De nombreuses dégustations ont montré que les vins provenant de moûts traités à la bentonite avaient un goût plus net et plus de race que les vins provenant de moûts non traités ou traités après la fermentation. Cette différence est en général d'autant plus grande que le vin est de meilleure qualité. La différence est également très grande pour les vins provenant de vendanges altérées (oïdiées, coîtrées).

Action de la bentonite sur les fongicides organiques de synthèse

Dans la lutte contre les maladies de la vigne, on utilise de plus en plus des fongicides organiques de synthèse. Ces produits sont apportés par le raisin dans le moût, et, comme l'ont déjà constaté un certain nombre d'auteurs (Peynaud et Mlle Lafourcade, Cordonnier, Saller) ont une influence inhibitrice sur les levures de vin.

Tableau 3

Action de la bentonite sur les fongicides de synthèse dans le moût

	Période de latence (jours)	Période de fermentation (jours)	Observations
Moût témoin	1/2	6	
+ Dithane	5	7	
+ Dithane + bentonite	3	7	
+ Orthocide	—	—	Pas de fermentation
+ Orthocide + bentonite	3	11	
+ Polyram	—	—	Pas de fermentation
+ Polyram + bentonite	3	4	Fermentation très active

Nous avons examiné l'action de la bentonite sur le Dithane, l'Orthocide et le Polyram, fongicides connus pour le traitement du mildiou de la vigne. On a ajouté aux moûts un des fongicides cités (produit commercial), respectivement à des doses de 2,0, 0,05, et 0,1 g par litre, et ensuite 2 g par litre de bentonite et 2 % de levain en pleine activité. Les résultats obtenus sont exposés dans le tableau 3.

Ces résultats montrent que la bentonite paralyse l'action des fongicides et rend possible la fermentation alcoolique. Dans l'essai avec le Dithane, la bentonite a avancé le début de la fermentation ; dans les essais avec l'Orthocide et le Polyram, elle a rendu possible la fermentation (sans bentonite il n'y a pas de fermentation). L'essai Polyram + bentonite est intéressant : après une période de latence, se manifeste une fermentation particulièrement active ; ce phénomène est apparu également à l'occasion d'essais répétés.

Action de la bentonite sur les oxydases

Dans le raisin sain se trouve, comme on le sait, l'o-polyphénoloxydase. Cette oxydase est fixée sur les parties solides de la pulpe et apportée avec elles dans le moût. Dans le moût filtré de raisin sain, il n'y a pratiquement pas d'o-polyphénoloxydase, ou en quantité insignifiante. Cette quantité d'oxydase peut être éliminée comme l'a montré Nilov (14) par la bentonite. Du reste, cette quantité est rendue inactive au cours de la fermentation, comme l'indique Rodopoulo (18), ou réduite de 95 % comme l'ont trouvé Bayer, Born et Reuther (1). Il en est autrement avec le moût de raisin botrytisé. Le moût de ce raisin contient une beaucoup plus grande quantité d'oxydases, en solution, qui ne peuvent pas être séparées par filtration. Nos examens ont montré que la bentonite adsorbe aussi ces oxydases mais que pour leur complète élimination une grande quantité de bentonite de bonne qualité est nécessaire (les bentonites calciques ont un faible pouvoir adsorbant pour les oxydases).

Pour éliminer les oxydases d'un moût où a été cultivé le *Botrytis cinerea*, il a été nécessaire de faire quatre traitements avec 2 g par litre de bentonite préparée dans l'eau.

Sur un autre moût où avait également été cultivée la moisissure citée, mais qui contenait moins d'oxydases, nous avons étudié l'action simultanée de la bentonite et de l'anhydride sulfureux. Les résultats de cet essai sont exposés dans le tableau 4.

Ces résultats présentent quelques données intéressantes. L'essai 1 montre que le processus de la fermentation ne rend pas inactives les oxydases produites par le *Botrytis cinerea*, ou du moins dans une faible mesure. Du reste, si le processus de la fermentation inactivait les oxydases, nous n'aurions pas connu la casse oxydasique du vin.

L'essai 2 montre que 2 g par litre de bentonite n'étaient pas suffisants pour éliminer complètement les oxydases du moût, mais la partie non adsorbée d'oxydases a disparu au cours de la fermentation. On se demande si la partie non adsorbée d'oxydases a été paralysée par l'action des levures ou encore par l'action de la bentonite au cours de la fermentation. Quoi qu'il en soit, par l'addition de bentonite, on a obtenu du vin sans oxydases.

Les essais 3, 4 et 5 montrent que pour l'inactivation des oxydases dans le moût, plus de 60 mg par litre d'anhydride sulfureux sont nécessaires, mais cette dose est pratiquement suffisante, car la partie non paralysée est inactivée au cours de la fermentation.

TABLEAU 4

Action simultanée de la bentonite et du SO_2 sur les oxydases dans le moût

Doses ajoutées par litre

	Présence des oxydases	
	Dans le moût, 24 h après traitement	Dans le vin après fermentation
Moût témoin	+	+
+ 2 g bentonite	+	—
+ 20 mg SO_2	+	+
+ 60 mg SO_2	+	—
+ 100 mg SO_2	—	—
+ 20 mg SO_2 + 2 g bentonite	+	—
+ 60 mg SO_2 + 2 g bentonite	—	—

Les essais 2 et 4 montrent que 2 g par litre de bentonite ont le même effet que 60 mg par litre d'anhydride sulfureux, et les essais 5 et 7 montrent que 60 mg par litre d'anhydride sulfureux + 2 g par litre de bentonite ont le même effet que 100 mg par litre d'anhydride sulfureux. Cela signifie que, par l'emploi de la bentonite, on peut diminuer la dose d'anhydride sulfureux pour le sulfitage des moûts, ce qui est d'une importance pratique très grande surtout pour les moûts de raisins pourris et pour l'élaboration des vins destinés à la champagnisation.

DASKALOV et RANGUELOVA (3) considèrent que les oxydases adsorbées par la bentonite sont éluées au cours de la fermentation alcoolique, et à cause de cela recommandent d'éliminer le précipité de bentonite du moût avant la fermentation. C'est en contradiction avec notre essai 2 (tabl. 4) : non seulement la bentonite n'a pas transmis au vin les oxydases adsorbées, mais elle a adsorbé le reste des oxydases au cours de la fermentation (pour autant qu'elles ne sont pas inactivées par la levure). Nous avons fait d'autres expériences qui montrent que la bentonite fixe solidement les oxydases adsorbées. Ainsi, par exemple, si on traite à la bentonite un moût riche en oxydases (moût ayant servi de culture de *Botrytis cinerea*) et qu'on lave plusieurs fois le précipité de bentonite avec un moût stérilisé, on constate qu'il contient des oxydases actives. Si ce précipité est mis dans un moût stérilisé et si celui-ci subit une fermentation, on constate que dans le vin obtenu il n'y a pas d'oxydases, tandis que dans le précipité les oxydases ont gardé leur activité. Du reste l'essai du tableau 5 montre qu'il n'y a pas élution des oxydases. Enfin, on a constaté dans nos essais que les oxydases peuvent être éliminées du vin fait par un traitement à la bentonite de bonne qualité, appliqué à plusieurs reprises, ce qui ne serait pas possible si le vin effectuait une élution des oxydases.

Sur la base de tout ce que nous venons d'exposer, nous pouvons conclure qu'il ne faut pas éliminer la bentonite du moût traité.

APPLICATION DE LA BENTONITE AU TRAITEMENT DU MOÛT

Préparation des suspensions de bentonite. — La préparation de la bentonite pour l'utilisation comporte normalement deux phases : gonflement et préparation de suspensions homogènes à 5 %. Nous avons employé, dans notre travail, trois types de suspensions :

I. Gonflement et suspension dans l'eau.

II. Gonflement dans l'eau, suspension dans le moût.

III. Gonflement et suspension dans le moût.

Les suspensions ainsi préparées sont ajoutées aux moûts avant la fermentation (100 g par hectolitre). Après la fermentation et la clarification spontanée, on a fait l'examen de la présence des protéines et des oxydases dans le vin.

Les résultats sont résumés dans le tableau 5.

TABLEAU 5

Pouvoir adsorbant de divers types de suspensions de bentonite

	Type de suspension	Troubles après chauffage	Présence d'oxydases
Moût de raisins sains	Témoin	10	—
	I	0	—
	II	0	—
	III	6	—
Moût de raisins légèrement pourris (botrytisés)	Témoin	10	++
	I	0	—
	II	0	—
	III	6	+

10 : trouble intense ; 0 : limpidité parfaite

Comme on peut le voir sur ce tableau, la suspension III a montré un pouvoir adsorbant faible envers les protéines comme envers les oxydases. Par conséquent il faut faire le gonflement de la bentonite dans l'eau, puis décanter l'eau et préparer la suspension soit dans l'eau pure, soit dans le moût.

Nous ajoutons toujours la suspension de bentonite au moût débourbé. Il est important, on le comprend, de bien faire le mélange ; cela est réalisé dans la production industrielle avec des agitateurs puissants.

Doses nécessaires. — La dose nécessaire pour traiter un moût ou un vin dépend de la qualité de la bentonite, de sa préparation et de la composition du moût ou du vin. Dans nos essais, la dose de 80 à 100 g de bentonite par hectolitre, gonflée dans l'eau,

a toujours été suffisante pour traiter du moût de raisins sains et aussi de raisins botrytisés. Il est intéressant de remarquer que les moûts de raisins botrytisés ont nécessité une dose de bentonite moindre que les moûts de raisins sains. Il semble que *B. cinerea* désagrège les matières protéiques, ce qu'a fait remarquer KIELHÖFER (4).

La dépendance du pouvoir adsorbant de la bentonite par rapport au mode de préparation est montrée aussi par l'essai suivant. Un vin de Riesling de la vendange de 1962 (année sèche) a été traité par des doses variées de bentonite préparée suivant les trois façons indiquées (au lieu de moût on a pris du vin pour la préparation de la suspension). On a constaté que pour la stabilisation de ce vin il fallait :

60 g par hectolitre de bentonite si on utilise la suspension I
100 g par hectolitre « « « II
240 g par hectolitre « « « III

On considère souvent que pour traiter le moût il faut une quantité de bentonite plus grande que pour traiter le vin, les autres conditions étant les mêmes. Si on considère que le moût est toujours plus ou moins trouble, malgré le débourbage, cette supposition est très logique. Cependant, dans la majorité de nos essais, cela ne s'est pas avéré exact. Un de ces essais, fait avec du moût de Smederevka (cépage blanc) de la vendange de 1959 est indiqué dans le tableau 6.

Comme le montrent les résultats de ces essais, 100 g de bentonite par hectolitre sont suffisants si on les ajoute au moût avant la fermentation et si on les y laisse pendant la fermentation, mais ne sont pas suffisants si on les retire du moût avant la fermentation ou si on les ajoute au vin après la fermentation. Tout se passe comme si la bentonite continuait à agir au cours de la fermentation. Il est possible que cette plus grande efficacité de la bentonite vienne de ce qu'au cours de la fermentation tumultueuse elle est plus complètement mélangée au moût. De la même façon, on peut supposer que l'activité accrue de la bentonite vient de ce que, au cours de la fermentation tumultueuse, il se produit un abaissement net du pH du moût. Quoi qu'il en soit, on peut dire que le moût ne nécessite pas une plus grande quantité de bentonite que le vin, les autres conditions étant les mêmes.

TABLEAU 6

Pouvoir adsorbant de la bentonite dans diverses phases de l'élaboration du vin

Traitement	Trouble après chauffage
Moût non traité (témoin)	10
+ 1 g par litre de bentonite et, après 4 h, centrifugation	3
+ 1 g par litre de bentonite, fermentation avec la bentonite	0
+ 1 g par litre de bentonite après la fermentation et soutirage	3

Quantité de lie. — Un des inconvénients de la vraie bentonite (bentonite sodique) est qu'elle laisse dans le vin traité un précipité volumineux. C'est pourquoi, certains auteurs, par exemple TROOST (22), recommandent la bentonite calcique. Il est vrai

que ces bentonites créent un précipité beaucoup moins grand, mais elles ont un pouvoir adsorbant sensiblement moindre et il est nécessaire d'en utiliser une plus forte dose. Une question de principe se pose : vaut-il mieux utiliser une moindre dose d'un produit plus actif ou une plus forte dose d'un produit moins actif ? Nous sommes pour la première solution, car avec une moindre quantité d'un produit qui contient des impuretés, on introduit une plus petite quantité de ces impuretés dans le vin ; c'est d'ailleurs la raison pour laquelle on a abandonné l'emploi du kaolin, de la terre d'Espagne et d'autres produits semblables.

Le pouvoir adsorbant d'une même bentonite sodique, comme nous venons de le voir, dépend de la façon dont est préparée la suspension : la suspension I (suspension dans l'eau) a un pouvoir adsorbant 4 fois plus grand que la suspension III (suspension dans le vin). Il est vrai que la suspension I produit un précipité plus important que la suspension III, si on l'utilise à la même dose. Cependant, pour atteindre le même effet, il faut utiliser une dose 4 fois plus grande de suspension III et cette dose crée un précipité plus grand que la dose 4 fois plus petite de suspension I, ce qu'on peut voir d'après les données suivantes :

Vin A :	Volume du précipité ml
100 ml vin + 60 g par hectolitre de bentonite, suspension I	9,3
« + 100 g par hectolitre « suspension II	13,3
« + 240 g par hectolitre « suspension III	19,7

Vin B :	
100 ml vin + 60 g par hectolitre de bentonite, suspension I	8,5
« + 100 g par hectolitre « suspension II	13,7
« + 240 g par hectolitre « suspension III	23,0

L'avantage de l'addition de bentonite au moût est aussi que le volume de lie est diminué de 40 à 50 % par rapport au précipité formé quand on ajoute la bentonite au vin ; les résultats suivants le montrent :

	Quantité de lie %
1. Témoin non traité	2,2
2. Bentonite 100 g par hectolitre, ajoutée au moût	5,6
3. Bentonite 100 g par hectolitre, ajoutée au vin après soutirage	6,6

Dans l'essai 3, on a obtenu 6,6 % de lie (après 5 jours de sédimentation) ; il faut y ajouter 2,2 % de lie naturelle, ce qui fait en tout 8,8 % . De plus, par l'addition de bentonite au moût, on obtient une lie moins mobile, plus dense, que quand on l'ajoute au vin, ce qui est encore un avantage de l'addition de la bentonite au moût.

Conclusions

Les résultats des recherches effectuées permettent de tirer les conclusions suivantes :

1. La bentonite est le moyen le plus approprié pour le traitement préventif de la casse protéique des vins. Dans ce but, elle peut être ajoutée soit au vin fait soit au moût.

2. Il vaut mieux ajouter la bentonite au moût et l'y laisser au cours de la fermentation que de l'ajouter au vin fait.

3. Les avantages de l'addition de la bentonite au moût sont les suivants :

a) la fermentation du moût est plus rapide et plus complète, surtout si le moût provient de raisins pourris et de raisins traités aux fongicides organiques de synthèse ;

b) la clarification spontanée du vin est plus rapide et plus complète ;

c) l'élaboration du vin est plus économique, car on évite un soutirage et un collage ou filtration, opérations qui suivent le traitement du vin à la bentonite ;

d) le goût et l'odeur du vin sont plus nets et plus accentués (l'odeur éventuelle de bentonite disparaît au cours de la fermentation) et le vin peut être mis plus tôt en circulation ;

e) le sulfitage du moût, surtout du moût de raisins pourris, exige une moindre dose d'anhydride sulfureux, car la bentonite adsorbe les oxydases ; les oxydases adsorbées restent fixées par la bentonite pendant la fermentation alcoolique ;

f) il se forme un volume moindre de lie.

4. Le moût n'exige pas une quantité de bentonite plus grande que le vin obtenu de ce même moût.

5. La bentonite doit être préparée dans l'eau, ou du moins gonflée dans l'eau et mise en suspension dans le moût.

Pour les raisons exposées plus haut, comme pour éviter l'oxydation du vin, nous recommandons de traiter préventivement les troubles protéiques du vin par l'addition de bentonite dans le moût.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(1) E. BAYER, F. BORN et K.H. REUTHER. *Zeits. Lebens. Unters. Forsch.*, 1957, **2**, 77. (2) P. BÖHRINGER et H. DÖLLE. 1959, **2**, 121. (3) L. IV. DASKALOV et Z. RANGELOVA. *Lozarstvo i Vinarstvo*, 1962, **6**, 41. (4) E. KIELHÖFER. *Weinberg u. Keller*, 1954, **8**, 292. (5) J. KOCH. *Weinberg u. Keller*. 1958, **8**, 432. (6) J. KOCH et SAJAK. *Weinberg u. Keller*, 1963, **1-2**, 35. (7) L. KOMAROVA. *Mikrobiologia*, 1951, 2. (8) V. LITCHEV et Z. NIKOVA. *Lozarstvo i Vinarstvo*, 1962, **1**, 88. (9) A. MAVEROFF. *VIII*e *Congrès intern. Vigne Vin*, Santiago du Chili, 1956, III, 44. (10) D. MILISAVLJEVIC. *VIII*e *Congrès inter. Vigne Vin*, Santiago du Chili, 1956, III, 171.

(11) D. MILISAVLJEVIC. *Ann. Sci. agr.*, 1954, **7**, 17, 3. (12) D. MILISAVLJEVIC. *Ann. Sci. agric.*, 1958, **9**, 33, 67. (13) D. MILISAVLJEVIC. *Savremena poljoprivreda*, 1961, **7**, 755. (14) V.V. NILOV. *Vinodelie i Vinogradarstvo*, 1961, **8**, 13. (15) J. RIBÉREAU-GAYON et E. PEYNAUD. *Traité d'œnologie*, II, Paris, 1961. (16) J. RIBÉREAU-GAYON. *Ann. Falsif.*, 1932, **25**, 518 et 602. (17) J. RIBÉREAU-GAYON. *Rev. Viticulture*, 1935, **82**, 367. (18) A.K. RODOPOULO. *Biochim. Vinodelia*, 1953, **4**, 211. (19) H. SCHANDERL. *Weinberg u. Keller*, 1955, **2**, 313. (20) N.M. SISSAKIAN et coll. *Vinodelie i Vinogradarstvo*, 1960, **8**, 7.

(21) H. SCHMITTHENNER. *Das Weinland*, 1938, **8**, 260. (22) G. TROOST. *Weinberg u. Keller*, 1960, **11**, 444. (23) A. VERDINO. *Das Weinland*, 1937, **7**, 286. (24) V.J. ZINTCHENKO. *Vinodelie i Vinogradarstvo*, 1961, **8**, 15.

Résumé

La bentonite est le moyen le plus approprié pour le traitement préventif de la casse protéique des vins. Dans ce but, elle peut être ajoutée soit au vin fait, soit au moût.

Dans ce travail, on envisage le traitement préventif de la casse protéique du vin par l'addition de bentonite au moût, en l'y laissant pendant la fermentation, c'est-à-dire jusqu'au premier soutirage. La bentonite se trouvant dans ce cas dans des conditions différentes que lorsqu'elle est ajoutée au vin fait, il était intéressant d'examiner son comportement dans le moût. On a donc étudié l'influence de la bentonite sur le cours de la fermentation alcoolique, puis l'influence sur la composition chimique et les caractères organoleptiques du vin, sur la stabilité du vin vis-à-vis de la casse protéique, sur l'élimination des fongicides organiques de synthèse et des oxydases du moût. Enfin, on a étudié l'efficacité de la bentonite en fonction de son mode de préparation et d'emploi.

On a constaté que la bentonite fixe très efficacement les protéines du moût et que son addition au moût avant la fermentation permet d'obtenir un vin tout à fait stable. Ce procédé n'exige pas une quantité de bentonite plus grande que le procédé habituel (addition au vin fait). En ce qui concerne la composition chimique du vin, il n'existe aucune différence entre les deux procédés. Mais au point de vue organoleptique le premier procédé (addition au moût) est préférable. Ce procédé a encore d'autres avantages : il assure une fermentation plus complète, car la bentonite adsorbe les substances anti-levures (antibiotiques et fongicides organiques). La bentonite adsorbe également les oxydases présentes dans le moût ; et en outre permet de réduire la quantité d'anhydride sulfureux lors du sulfitage du moût. Enfin, ce procédé est aussi plus économique, car il demande moins de travail et permet de commercialiser le vin plus rapidement.

Les suspensions de bentonite préparées dans l'eau se sont montrées les plus efficaces ; on peut recommander aussi la suspension dans le moût à condition de faire le gonflement dans l'eau.

PREVENTION OF PROTEINIC TURBIDITIES IN WINE BY ADDITION OF BENTONITE TO THE MUST

D. MILISAVLJEVIC

Summary

Bentonite is the most suitable prevertive of protein clouding in wine. For this purpose, it can either be added to the finished wine or to the must.

One first considers the instance of the preventive treatment of protein clouding in wine by addition of bentonite to the must, in which it will be left during fermentation, that is to say until the first racking takes places. Here, since bentonite is being used under different conditions than when added to the finished wine, it was interesting to note how it behaved in the must. The influence of bentonite on the course of alcoholic fermentation has therefore been examined, also its influence on the chemical composition and organoleptic characteristics of wine, on the stability of wine with respect to the protein clouding, on the elimination of synthetic organic fungicides and of the oxidases in the must. Finally, one has considered the efficiency of bentonite according to its mode of preparation and use.

One notes that bentonite fixes the proteins of the must very efficiently and that its addition to the must before fermentation enables one to obtain a quite stable wine. This process does not require a greater quantity of bentonite than the usual one (addition to the finished wine). As far as the chemical composition of wine is concerned, there is no difference between the two processes. But from an organoleptic point of view, the first one (addition to the must) is to be prefered. It possesses even more advantages : it ensures a more complete fermentation for bentonite adsorbs the yeast-inhibiting substances (antibiotics and organic fungicides). Bentonite also adsorbs the oxidases which are to be found in the must, and besides, allows one to reduce the quantity of sulfur dioxide used at the time of the treatment of the must with a sulfite. Finally, this process is also more economical, for it requires less work and thus wine can be commercialized quicker.

As for the preparation of the bentonite suspensions, suspensions in water have proved to be more efficient ; suspensions in the must can also be recommended providing that the swelling first takes place in water.

VORBEUGUNG GEGEN EIWEISSTRÜBUNGEN IM WEIN DURCH ZUGABE VON BENTONIT ZUM MOST

D. MILISAVLJEVIC

ZUSAMMENFASSUNG

Der Bentonit ist wohl das geeignetste Vorbeugungsmittel gegen Eiweisstrübung der Weine. Zur Erreichung dieses Zieles kann man ihn entweder zum ausgebauten Wein oder zum Most geben. In der vorliegenden Abhandlung wird auf die vorbeugende Behandlung der Weine gegen Eiweisstrübungen näher eingegangen, indem man den Bentonit dem Most beigibt und ihn während der Gärung bis zum ersten Abstich einwirken lässt. Da der Bentonit im Most unter ganz anderen Bedingungen zur Wirkung kommt als in einem ausgebauten Wein, ist es sehr interessant, sein Verhalten im Most zu beobachten. So hat man den Einfluss des Bentonits auf den Verlauf der alkoholischen Gärung, auf die chemische Zusammensetzung, die geschmacklichen Eigenschaften der Weine sowie auf ihre Beständigkeit gegenüber Eiweisstrübungen, auf die Entfernung organischer Schädlingebekämpfungsmittel und die Oxydasen des Mostes studieren können. Schliesslich hat man die Wirksamkeit des Bentonits in Abhängigkeit von seiner Herstellung und Anwendung einem eingehenden Studium unterworfen. Man hat festgestellt, dass Bentonit sehr wirksam die Eiweissstoffe des Mostes bindet und dass eine Zugabe zum Most vor der Gärung zu absolut beständigen Weinen führt. Dieses Verfahren erfordert keineswegs grössere Bentonitmengen wie die übliche Zugabe zu fertigem Wein.

In Bezug auf die chemische Zusammensetzung des Weines besteht zwischen beiden Verfahren kein Unterschied. In geschmacklicher Hinsicht ist das erste Verfahren (Zugabe zu Most) vorzuziehen. Diese Verfahrensweise hat noch andere Vorteile : Sie gewährleistet eine sichere und vollständige Vergärung, weil der Bentonit die verschiedenen Hemmstoffe für die Hefe (Antibiotika und organische Fungizide) aufnimmt. Bentonit adsorbiert gleichfalls die im Most vorhandenen Oxydasen und erlaubt daher, die Menge der Schwefeligen Säure zu verringern. Abschliessend sei noch erwähnt, dass dieses Verfahren auch wirtschaftlicher ist, da es weniger Arbeit erfordert und der Wein früher dem Verkauf zugeführt werden kann.

Am wirksamsten hat sich die Anwendung des Bentonits in wässriger Aufschwemmung erwiesen. Bei vorheriger Quellung im Wasser kann auch die Aufschwemmung im Most empfohlen werden.

PREVENZIONE DEGLI INTORBIDAMENTI DEL VINO MEDIANTE AGGIUNTA DI BENTONITE AL MOSTO

D. MILISAVLJEVIC

RIASSUNTO

La bentonite è il prodotto più appropriato per il trattamento preventivo della casse proteica dei vini. A questo scopo essa puó essere addizionata sia al vino fatto, sia al mosto.

In questo lavoro si esamina il trattamento preventivo della casse proteica del vino per addizione di bentonite al mosto : essa vi rimane durante tutta la fermentazione, e viene separata nel corso del primo travaso. Poichè la bentonite si trova, in questo caso in condizioni diverse daquelle che si verificano quanto essa i aggiunta al vino fatto, é interessante esaminare il suo comportamento nel mosto. Si è dunque studiata l'influenza della bentonite sull'andamento della fermentazione alcoolica, quindi l'influenza sulla composizione chimica e sui caraterri organolettici del vino, sulla stabilità del vino nei riguardi della casse proteica, sulla eliminazione dei fungicidi organici di sintesi e delle ossidasi del mosto. Infine si è studiata l'efficacia della bentonite in funzione del suo modo di preparazione e d'impiego.

Si è constatato che la bentonite fissa assai efficacemente le proteine del mosto, e che la sua addizione al mosto prima della fermentazione permette d'ottenere un vino assolutamente stabile. Questo procedimento presenta ancora degli altri vantaggi : assicura una fermentazione più completa, perché la bentonite adsorbe le sostanze anti-lievito (antibiotici e fungicidi organici). La bentonite adsorbe pure le ossidasi presenti nel mosto, ed inoltre permette di ridurre la quantità di anidride solforosa al momento della solfitazione del mosto. Infine questo processo è anche più economico perché richiede meno lavoro, e permette di commercializzare il vino più rapidamente.

In quanto alla preparazione delle sospensioni di bentonite, le sospensioni nell'acqua si sono dimostrate più efficaci ; si puó raccomandare anche le sospensioni nel mosto a condizione di fare rigonfiare la bentonite nell'agua.

PREVENCIÓN DE LOS ENTURBIAMIENTOS PROTEICOS DEL VINO POR LA ADICIÓN DE BENTONITA EN EL MOSTO

D. MILISAVLJEVIC

RESUMEN

La bentonita es el medio más apropiado para el tratamiento preventivo de la quiebra proteica de los vinos. Con este fin, puede ser agregada ya sea al vino hecho o bien al mosto.

En este trabajo se considera el tratamiento preventivo de la quiebra proteica del vino, por la adición de bentonita al mosto, dejándola presente durante la fermentación, es decir hasta el primer trasiego. Encontrándose la bentonita en este caso en condiciones diferentes de cuando se agrega al vino hecho, era interesante examinar su comportamiento en el mosto. Se ha estudiado entonces la influencia de la bentonita sobre la marcha de la fermentación alcohólica, despues, la influencia sobre la composición química y los caracteres organolépticos del vino, sobre la estabilidad del vino frente a la quiebra proteica, sobre la eliminación de los fungicidas orgánicos de sintesis y de las oxidasas del mosto. Enfin, se ha estudiado la eficacia de la bentonita en función de su modo de preparación y de empleo.

Se ha comprobado que la bentonita fija muy eficazmente las protéinas del mosto y que su adición al mosto antes de la fermentación, permite obtener un vino completamente estable. Este procedimiento no exige una cantidad de bentonita mayor que el procedimienti habitual (adición al vino hecho). Por lo que toca a la composición química del vino, no existe ninguna diferencia entre los dos procedimientos. Pero desde el punto de vista organoléptico, el primer procedimiento (adición al mosto) es preferible. Este procedimiento tiene aún otras ventajas : asegura una fermentación más completa pues la bentonita adsorbe las substancias « antilevadura » (antibióticos y fungicidas orgánicos). La bentonita adsorbe tambien las oxidasas presentes en el mosto, y además permite disminuir la cantidad de anhidrido sulfuroso, al momento de tratar con éste el mosto. Finalmente, este procedimiento es también más económico porque requiere menos trabajo y permite comercializar el vino más rapidamente.

En cuanto a la preparación de las suspensiones de bentonita, las hechas en agua se han mostrado como las más eficaces ; se puede recomendar también la suspensión en el mosto a condición de hacer la hidratación (hinchamiento) en agua.

DISCUSSION

M. LÉGLISE (Beaune) : Quel est le volume du dépôt obtenu après fermentation en présence de bentonite ? Quel a été le mode d'injection de la bentonite dans le vin, la rapidité du mélange conditionnant beaucoup l'efficacité de ce traitement ?

Réponse : 1) L'un des avantages de l'addition de la bentonite au moût est la moindre quantité de lie totale ; la quantité de lies est inférieure de 40 à 50 %, par rapport au précipité formé quand on ajoute la bentonite au vin fait.

2) Le mélange des suspensions de bentonite avec le moût à traiter doit être effectué rapidement et intimement, à l'aide d'appareils de mélange à turbine.

EMPLOI DU FROID DANS LE TRAITEMENT DES VINS

R. CASSIGNARD

Institut Technique du Vin, Station Agronomique et Œnologique de Bordeaux (France)

Parmi les traitements physiques utilisés dans la technique viticole, la réfrigération a pris ces dernières années beaucoup d'importance. Les effets du froid sur les vins jeunes ont toujours été recherchés dans le passé. Avant la construction des machines frigorifiques, les viticulteurs avertis recherchaient l'action du froid naturel de l'hiver pour améliorer la qualité et la stabilité des vins fins, ou même pour concentrer ceux de faible degré. Mais l'usage du froid a toujours été très empirique et ce n'est que récemment que les œnologues ont étudié ce traitement et que des publications ont été faites sur son utilisation industrielle. Nous rappellerons plus spécialement les effets de la réfrigération : sur les précipitations cristallines, sur la précipitation des matières colorantes ; comme traitement éventuel des casses ferrique et protéique des vins ; sur la modification des caractères organoleptiques des vins traités. Puis dans un autre ordre d'idée, nous examinerons l'influence de différentes températures de garde sur l'évolution de vins rouges en bouteilles durant plusieurs mois.

Le problème de la concentration des vins par le froid n'est pas directement une technique de stabilisation, nous ne l'évoquerons pas, de même que l'utilisation si avantageuse du froid pendant la période de la fermentation alcoolique.

Il faut tout d'abord souligner que le refroidissement d'un vin à une température inférieure à 0 °C, voisine de son point de congélation, ne produit que des transformations physiques constituées presque uniquement par des insolubilisations ; le froid n'a pas d'action chimique au cours du traitement. Il provoque de plus un arrêt seulement passager de toute activité microbienne, mais le froid ne stabilise pas microbiologiquement un vin.

Stabilisation des précipitations cristallines

Un vin jeune peut être comparé à une solution sursaturée de sels de l'acide tartrique, tartrate acide de potassium (bitartrate), tartrate de calcium. L'enrichissement en alcool pendant la fermentation alcoolique, l'abaissement de la température extérieure en automne, puis en hiver, également la disparition de l'acide malique par

fermentation malolactique, sont des facteurs favorables à la diminution de la solubilité des sels de l'acide tartrique. Le tableau 1 reproduit les valeurs de la solubilité du bitartrate de potassium en fonction du degré alcoolique et de la température.

TABLEAU 1

Solubilité du bitartrate de potassium en solutions hydroalcooliques
D'après BERG et KEEFER (1). Teneurs en méq par litre

Température	Eau	Degré alcoolique					
		10°	11°	12°	13°	14°	16°
— 4 °C	10,6	5,6	5,2	4,8	4,6	4,3	3,7
0	11,9	6,7	6,2	5,9	5,4	5,2	4,6
5	14,1	8,4	7,9	7,4	7,0	6,6	5,9
10	18,4	11,7	10,2	9,6	9,1	8,6	7,8
15	22,2	13,0	12,5	11,9	11,3	10,8	9,7
20	26,1	16,4	15,5	14,7	14,0	13,3	12,0
25	30,1	18,7	18,4	17,0	16,1	15,3	13,8

Les cristallisations du bitartrate de potassium et du tartrate de calcium sont lentes, surtout pour ce dernier sel ; de plus, elles sont gênées, soit par des inhibiteurs naturels de cristallisation, soit par l'effet de colloïdes ou de matières en suspension qui enrobent les germes cristallins. Ce retard entraîne, pendant la période de conservation, même à température constante, des précipitations de bitartrate de potassium et surtout de tartrate de calcium dans certains vins, plusieurs mois après la fermentation alcoolique.

Les lois physico-chimiques réglant la solubilité des sels sont bien connues. Ainsi la solubilité du bitartrate de potassium peut être modifiée par des apports d'ions tartrate, d'ions H^+ ou K^+, puisque la solubilité d'un sel diminue quand on ajoute un de ses ions. Par ailleurs lorsqu'on ajoute au vin un acide, une partie du potassium est utilisée pour former de nouveaux sels en majeure partie dissociés. Dans ce cas la proportion de potassium enlevé au sel de l'acide tartrique dépend de la force de l'acide qui est ajouté ; elle est très grande avec les acides minéraux forts, elle est encore sensible avec les acides malique et lactique, mais elle est négligeable avec les acides citrique et acétique qui sont plus faibles et n'ont aucune incidence sur ces phénomènes. Le tableau 2 donne des exemples chiffrés de l'influence des acides malique et lactique sur la solubilité du potassium.

TABLEAU 2

Solubilité du potassium en solution à 10 % *d'alcool en présence des acides tartrique, malique et lactique*
D'après BOHNEN (2). Teneurs en méq par litre

Acide tartrique	Acide malique	Acide lactique	Acidité de titration	pH	Potassium
40	0	0	28	3,24	12
40	93	0	113	3,04	20
40	0	47	56	3,75	31
40	47	23	79	3,61	31

D'autre part, la courbe de la figure l'indique nettement, la teneur en bitartrates est maximale à pH 3,6, aussi la précipitation de ce sel est plus rapide et plus abondante dans un vin lorsqu'on se rapproche de ce pH. Par conséquent les facteurs qui diminuent l'acidité d'un vin (addition de carbonate de calcium, attaque bactérienne d'aci-

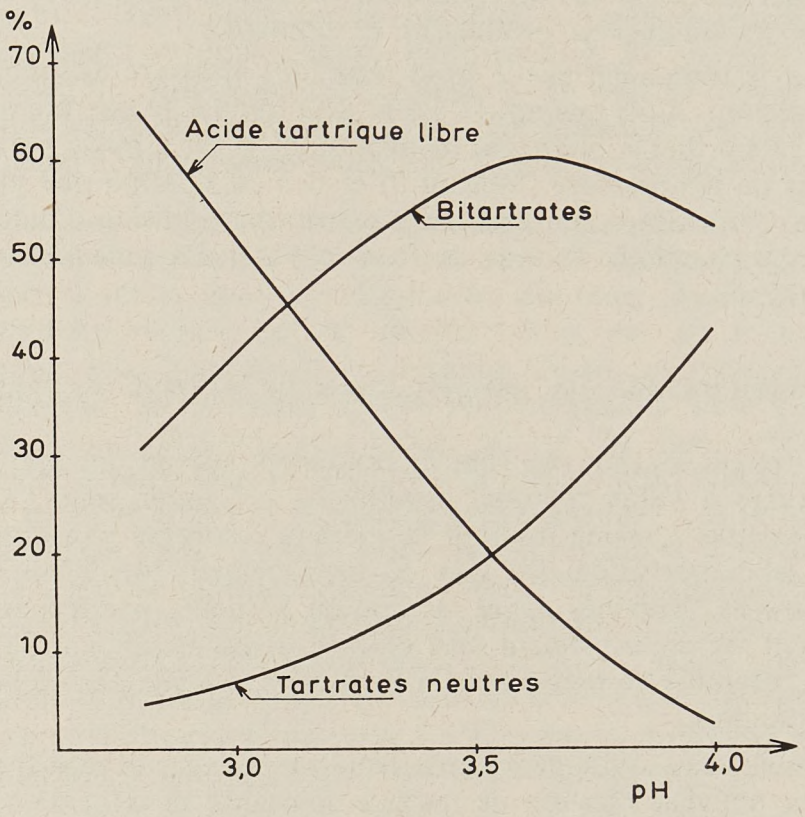


FIGURE 1

Pourcentage d'acide tartrique à l'état libre, de bitartrates et de tartrates en fonction du pH dans la zone d'acidité des vins.

des organiques du vin) facilitent la précipitation du bitartrate lorsque le vin a un pH initial inférieur à 3,6 et inversement toute augmentation de l'acidité agissant sur le pH (addition d'acide sulfureux) tend à augmenter sa stabilité à cet égard.

TABLEAU 3

Solubilité du tartrate de calcium en solutions hydroalcooliques et en fonction de la température
Teneurs en méq par litre calculées d'après BERG et KEEFER (1)

Températures °C	Degré alcoolique			
	10°	12°	14°	16°
— 4	0,30	0,25	0,21	0,18
0	0,34	0,29	0,24	0,21
5	0,40	0,34	0,29	0,24
10	0,47	0,40	0,33	0,28
15	0,56	0,47	0,40	0,34
20	0,66	0,55	0,47	0,39

Mais le facteur sur lequel il est le plus facile d'agir pour modifier la solubilité des sels de l'acide tartrique est la température. Cette solubilité diminue fortement avec la diminution de la température. On peut donc obtenir par réfrigération d'un vin, un nouvel état d'équilibre après élimination d'une partie des sels de l'acide tartrique et éviter ainsi ultérieurement des précipitations cristallines préjudiciables à la présentation d'un vin lorsqu'elles se produisent en bouteilles.

Toutefois, le traitement par le froid reste plus aléatoire lorsque le vin renferme un excès de calcium. Ainsi que nous l'avons déjà signalé, le tartrate de calcium précipite plus lentement que le bitartrate de potassium, il est d'autre part moins sensible aux variations de température (tableau 3) et il n'est éliminé que partiellement par séjour à basse température. Un traitement du vin par addition d'acide métatartrique peut dans ce cas compléter l'action du froid et éviter une précipitation ultérieure de tartrate de calcium.

Stabilisation des précipitations de matière colorante

Les vins rouges n'ayant pas subi de traitement spécial ont une fraction de leur matière colorante à l'état colloïdal capable de précipiter sous l'action du froid. Etant donné que cette même fraction de matière colorante s'insolubilise lentement au cours de la conservation des vins ou brusquement lors d'un refroidissement, il est nécessaire de l'éliminer avant la mise en bouteille par traitement approprié. La réfrigération est un traitement très efficace, mais on obtient la même stabilité de la matière colorante en précipitant la fraction colloïdale par un collage (gélatine, albumine, bentonite).

Dans les deux cas, traitement par le froid ou collage, la stabilité n'est pas définitive, car une nouvelle fraction de matière colorante se reforme à l'état colloïdal dans le vin par vieillissement, mais très lentement, en plusieurs mois ou plusieurs années.

Autres effets de stabilisation

La réfrigération des vins n'a pas seulement pour effet de stabiliser les vins vis-à-vis des précipitations cristallines et des précipitations de matière colorante ; il agit encore favorablement en améliorant la tenue des vins en ce qui concerne les casses ferrique et protéique.

Les basses températures en favorisant l'insolubilisation du phosphate et du tannate ferriques facilitent la casse ferrique. Mais en réalité la quantité de fer ainsi éliminée est assez faible et la réfrigération ne peut pas être considérée à elle seule comme un traitement suffisant de la casse ferrique.

D'autre part l'abaissement de la température d'un vin modifie les équilibres existants entre les tanins et les colloïdes azotés et on observe dans les vins réfrigérés des floculations de protéines. En fait le traitement par le froid n'élimine ici encore qu'une faible proportion des protéines et ne peut assurer une stabilisation suffisante vis-à-vis de ces précipitations notamment dans les vins blancs.

Enfin un abaissement de la température au-dessous de 0 °C, maintenu pendant une semaine, contribue à provoquer une sorte d'épuration biologique du milieu (3). Les levures inactivées et les bactéries, en grande quantité dans les vins nouveaux, sont entraînées en majeure partie dans les lies en même temps que les cristaux de tartre et la matière colorante à l'état colloïdal. Par ailleurs la filtration des vins est beaucoup facilitée.

Technique de la réfrigération des vins

L'opération s'effectue en trois temps :

— Le traitement frigorifique au cours duquel on amène rapidement le vin à la température minimale ; on déclenche ainsi la formation du précipité.

— La stabulation, période pendant laquelle le vin reste en repos dans des cuves calorifugées à une température aussi basse et aussi constante que possible.

— La filtration à basse température pour éliminer le précipité formé.

Nos connaissances sont restées longtemps assez succinctes au sujet de ce traitement ; cependant diverses études récentes ont apporté quelques précisions concernant les principes à suivre dans la réfrigération des vins. Des techniques, parfois différentes suivant les auteurs, ont été décrites ; il est vrai que le mode opératoire doit être en rapport avec la nature du vin à traiter. Un vin nouveau ne doit pas subir le même traitement qu'un vin vieux, déjà en partie dépouillé. Pour Kichkovski (4), lorsqu'on effectue une refroidissement rapide du vin, on observe la formation de cristaux très fins de bitartrate de potassium et la précipitation atteint la limite de la solubilité de ce sel ; par contre si le refroidissement est lent il se forme des cristaux plus volumineux, mais dans ce cas la précipitation est moins complète et n'atteint pas l'équilibre. Il est donc indispensable de procéder dans la pratique à un refroidissement rapide, qui a pour conséquence une cristallisation des sels tartriques plus complète. Le même auteur, à partir de ces constatations, pense pouvoir réduire à deux ou trois jours la durée de séjour en chambre froide, à la condition d'atteindre rapidement des températures inférieures de 0,8 °C à 1,6 °C à la température normale de congélation, grâce à une agitation continuelle du vin empêchant la formation de glace.

Dans la pratique comme il faut souvent plusieurs heures pour atteindre la température maximale, la cristallisation se fait en cristaux assez gros, faciles à éliminer par filtration, mais cette précipitation n'est pas toujours complète.

Pour Vedel (5), au contraire, il est préférable de laisser le vin réfrigéré plus longtemps sur ses cristaux pour atteindre leur grossissement optimal et cet auteur estime que l'action du froid n'a sa pleine efficacité que si le vin est maintenu à basse température pendant un minimum de 13 à 15 jours (surtout dans le cas des vins jeunes). Il a montré que le séjour en cuves n'avait pas seulement pour effet de permettre le tassement du dépôt sur le fond de la cuve, mais une élimination plus importante de cristaux de tartre, réduisant ainsi les risques ultérieurs de précipitation.

Tableau 4

Point de congélation des vins blancs et rouges

Degré alcoolique	Température de congélation °C
9°	— 3,7
10°	— 4,2
11°	— 4,7
12°	— 5,2
13°1	— 5,7
15°	— 6,9
20°7	— 10

Pour obtenir l'effet maximum de la réfrigération, il faut bien entendu abaisser le plus possible la température du vin au voisinage du point de congélation ; celui-ci dépend surtout du degré alcoolique et pour une moindre part de la teneur en extrait (6). Le tableau 4 indique le point moyen de congélation pour des vins normaux d'après les notices des constructeurs d'appareils frigorifiques.

Avant la réfrigération, il est nécessaire lorsqu'on traite un vin nouveau de le filtrer ou de le centrifuger pour éliminer les matières en suspension qui gênent ultérieurement la formation des cristaux tartriques. Lorsqu'on traite un vin blanc il est indispensable de le sulfiter suffisamment avant traitement, afin d'éviter l'oxydation toujours néfaste, dont les méfaits seraient aggravés par passage à basse température. Un minimum de 30 mg d'acide sulfureux libre par litre est indispensable pour un vin sec par exemple.

Les meilleurs résultats sont obtenus lorsque l'appareillage permet une grande surface de contact entre le vin et le mélange réfrigérant et lorsqu'on agite continuellement le vin pendant le refroidissement. La formation du précipité est en effet facilitée par brassage du vin (7), mais également par introduction de germes cristallins durant la réfrigération (fins cristaux de bitartrate de potassium, lies de vins réfrigérés).

La stabulation du vin en cuves calorifugées doit être plus prolongée qu'on ne le recommande habituellement. Si l'on veut obtenir une bonne élimination des sels de l'acide tartrique, 12 à 15 jours sont nécessaires. Par contre si on ne recherche par réfrigération que la précipitation des matières colorantes colloïdales des vins rouges, un repos au froid de 48 heures peut être suffisant (8). Après la période de stabulation le vin est filtré ; cette opération doit être effectuée à la température minimale, afin de retenir les derniers précipités restant encore en suspension.

Prévisions des précipitations tartriques

Il est bien difficile de prévoir l'importance des précipitations tartriques à l'aide de calculs tenant compte des taux d'acide tartrique, de potassium, du degré alcoolique, du pH, etc. Il faudrait également pouvoir tenir compte des autres anions et cations que contient le vin et qui participent aux équilibres ioniques. La prévision par le calcul ne peut intervenir qu'après une analyse complète des anions et des cations du vin, ce qui diminue son intérêt pratique. Par un essai de tenue au froid au-dessous de 0 °C pendant 8 à 15 jours on peut déterminer si le vin contient du bitartrate précipitable, cependant ce test n'est pas absolument sûr. Il faudrait prolonger le séjour au froid plusieurs semaines.

Effets de la réfrigération sur les caractères organoleptiques

Les vins jeunes sont généralement améliorés gustativement par ce traitement, d'autant plus nettement qu'ils sont plus jeunes. Les vins réfrigérés après une année de conservation par exemple ne sont plus guère améliorés et même lorsqu'il s'agit de vins fins, le traitement par le froid peut s'accompagner d'une perte nette d'arôme et de bouquet. Ce n'est pas un procédé de traitement pour les vins vieux.

L'amélioration gustative constatée sur les vins est liée surtout à une perte d'acidité fixe. Dans le cas de vins jeunes, on note une diminution de la saveur acerbe communiquée au vin par une teneur importante en bitartrate ; les tanins et polyphénols astringents sont peu précipités.

On constate également un certain effet de vieillissement des vins par réfrigération, qu'on explique par une meilleure dissolution de l'oxygène à basse température ; mais cet oxygène n'est capable de se fixer sur les éléments oxydables du vin que pendant la période de réchauffement.

Essais de conservation de vins rouges en bouteilles a basse température

Pour terminer ce rapport sur l'action du froid dans les vins, nous voudrions relater des essais effectués à la Cave expérimentale de la Station œnologique de Bordeaux qui nous ont permis d'étudier l'influence de la température de conservation sur la constitution et l'aspect de différents vins rouges.

Nous comparons ainsi des vins conservés dans des enceintes maintenues aux températures constantes de 3 °C, 15 °C et 30 °C, durant une période de huit mois.

Influence sur l'acidité. — Les acidités totales des différents vins sont plus faibles dans la série à 3 °C, ce qui est normal (précipitation de bitartrate) ; mais elles sont plus élevées à la température ordinaire qu'à l'étuve, avec des acidités volatiles identiques. L'élévation du degré alcoolique par addition d'alcool abaisse légèrement l'acidité totale. Ainsi pour une augmentation du degré alcoolique de 2°, l'acidité baisse de 0,2 à 0,3 g par litre, par suite de la plus faible solubilité du bitartrate en milieu riche en alcool.

Nous avons également étudié sur ces vins l'effet d'une addition préalable d'acide métatartrique. Cette influence est très faible à l'étuve et à température normale ; les échantillons contenant l'acide métatartrique ont simplement une acidité totale supérieure de 0,10 à 0,15 g par litre, comparativement à celle du témoin. A 3 °C la différence est plus grande par inhibition des cristallisations acides et atteint 0,3 g par litre.

Nous avons observé, au cours de ces essais de conservation que la précipitation des sels de l'acide tartrique est plus rapide dans les vins ne contenant pas d'acide malique. La présence d'anions maliques exerce un effet inhibiteur sur la précipitation des tartrates en favorisant la solubilité de ces sels.

Influence sur les polyphénols (9). — On note une constante remarquable des indices de permanganate exprimant le taux de polyphénols quelle que soit la température. Lorsque les vins sont en contact avec du bois de chêne, cet indice varie en fonction de la température de conservation ; à 3 °C et à 15 °C l'augmentation est de 15 % de la valeur initiale, elle est de 25 % à 30 °C. Une température élevée favorise la dissolution des tanins du bois.

Influence sur la couleur. — Sudraud utilise pour apprécier l'intensité colorante du vin, la somme des densités optiques à 420 mμ et 520 mμ mesurées sur une épaisseur de vin de 1 mm (10). L'intensité colorante mesurée de cette façon a beaucoup diminué aux températures de 15 à 30 °C ; la densité optique est passée de 1,05 à 0,67 et a donc diminué de 40 % pour ces deux conditions de température. On a noté que la diminution de couleur a été plus rapide à l'étuve, mais après 8 mois les intensités étaient les mêmes. Par contre à 3 °C, la diminution a été beaucoup plus faible et est passée à 0,85 seulement, soit une baisse de 20 %. Ces variations sont certainement en rapport avec un abaissement du potentiel d'oxydo-réduction plus fort à température élevée.

SUDRAUD a de même proposé de caractériser la teinte d'un vin par le rapport des densités optiques à 420 et 520 mμ (10). Ce rapport est d'autant plus grand que le vin est plus vieux, qu'il présente une teinte moins rouge vif, plus « tuilée ». A l'étuve, tous les échantillons sont très « tuilés » ; la couleur est oxydée et paraît cassée, sauf avec un sulfitage initial à 40 mg par litre. Du rapport 0,57, la teinte est passée au rapport 1,0 à 30 °C. A la température de 15 °C, le rapport est tombé à 0,75, ce qui correspond à une couleur légèrement tuilée, mais beaucoup plus franche qu'à 30 °C. Enfin à 3 °C la teinte a un peu moins évolué qu'à 15 °C et donne un rapport de 0,70 en moyenne. Cette teinte est légèrement tuilée après léger sulfitage (40 mg par l), soit 0,80 comme à 15 °C.

Ainsi, par conservation à basse température, le vin évolue beaucoup plus lentement au point de vue gustatif et intensité colorante ; cependant l'obtention de la teinte tuilée est presque aussi rapide qu'à température normale.

En conclusion, la stabilisation des vins par le froid est un traitement efficace pour éviter les précipitations de bitartrate de potassium après embouteillage des vins ; toutefois, il ne permet pas d'avoir une sécurité parfaite vis-à-vis des dépôts de tartrate de calcium qui peuvent se former quoique à un degré moindre après traitement. On lui reproche surtout d'être un procédé onéreux ; certains œnologues et utilisateurs peuvent estimer que la dépense engagée est hors de proportion avec les résultats obtenus et s'orientent vers une solution physico-chimique de la stabilisation. Cependant l'utilisation du froid dans le traitement des vins est un procédé naturel, ne soulevant aucune objection d'ordre hygiénique, autorisé par conséquent dans tous les pays. Mettant en œuvre un procédé physique, il a à ce titre de nombreux partisans, attirés également par la forme industrielle et mécanique du traitement. Au point de vue œnologique, malgré les études partielles qui lui ont été consacrées, la réfrigération demanderait encore une étude en profondeur des phénomènes cristallins et colloïdaux fort complexes qui l'accompagnent.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(1) H.W. BERG et R.M. KEEFER. *Amer. Journ. Enology*, 1958, **9**, 180. (2) E. BOHNEN. *Das chemische Gleichgewicht von Weinsäure, Apfelsäure mit Dikaliumtartrat*. These, Munich 1919. (3) E. BRÉMOND. *Rev. Agric. Afr. Nord*, 1954, **52**, 321 et 329. *Xe Congrès intern. Ind. Agric.*, Madrid, 1954. (4) Z.N. KICHKOVSKI. *Vinodelie i Vinograd U.R.S.S.*, 1955, n° 2, 11. (5) J. VEDEL. *Journée vinicole*, 14 septembre 1960. (6) V. RADOVANOVIC et R. PAUNOVIC. *Recueil trav. Faculté agron.* Zemun, 1957, **5**, n° 1. (7) Y. CABANE. *Rev. Vitic.*, 1931, **75**, 277. (8) J. RIBÉREAU-GAYON et E. PEYNAUD. *Traité d'Œnologie*, T. II, p. 792. (9) J. RIBÉREAU-GAYON et E. PEYNAUD. *Analyse et Contrôle des vins*, 1958, p. 320. (10) P. SUDRAUD. *Ann. Techn. agric.*, 1958, **2**, 203.

Résumé

L'emploi du froid dans le traitement des vins en vue de la stabilisation de leur limpidité s'est développé avec les progrès de l'industrie du froid, mais est encore fondé sur des bases trop empiriques. L'auteur rappelle que l'action du froid sur les vins nouveaux, qui contiennent en dissolution ou en suspension un excès de diverses substances organiques ou minérales, se traduit uniquement par des insolubilisations et des précipitations. Par séjour du vin à une température voisine du point de congélation, suivi d'une filtration, peuvent être ainsi éliminés du bitartartrate de potassium et du tartrate neutre de calcium, des matières colorantes et des tanins à l'état colloïdal, du phosphate ferrique, des matières protéiques, des pectines et autres polysaccharides. Les qualités gustatives des vins jeunes sont améliorées après traitement par le froid ; ils deviennent plus souples, moins acerbes.

L'auteur précise les conditions pratiques de la réfrigération. Entre autres, elle doit être effectuée sur les vins grossièrement filtrés ou centrifugés et ayant reçu une addition suffisante d'acide sulfureux. Pour être efficace sur les précipitations tartriques, le séjour au froid doit être suffisamment prolongé (12 à 15 jours) et doit se terminer par une filtration effectuée à la température minimale.

L'auteur termine par le compte rendu d'essais de conservation de vins rouges à différentes températures. A 3 °C l'évolution du vin et sa maturation gustative sont beaucoup plus lentes qu'à la température normale ; l'intensité colorante diminue beaucoup plus lentement, et cependant, contrairement à ce que l'on aurait pu attendre, la transformation de la couleur vers la teinte tuilée évolue presque aussi rapidement à basse température qu'à 15 °C.

USE OF COLD IN WINE TREATMENT

R. CASSIGNARD

Summary

The use of cold in the treatment of wine for the stabilization of its clarity has developed along with advancement in the refrigeration industry, but it is still founded on far too empirical grounds. The author recalls that the action of cold on new wines which contain an excess of various organic or inorganic substances, either in solution or in suspension, results solely through coagulations and precipitations. If wine remains at a temperature which is near freezing point and if it is then filtered, it can be freed from potassium bitartrate and neutral calcium tartrate, colouring matters and tannins in a colloidal state, ferric phosphate, proteinic substances, pectins and other polysaccharides. New wines see their gustative qualities bettered after treatment with cold ; they become supple, less bitter.

The author gives fuller information regarding the conditions in which refrigeration must be used. Amont other things, it must be carried out on wines wich have undergone a rough filtration or centrifugation and which have received a sufficient addition of sulfur dioxide. So as to produce an efficient effect on tartaric precipitations the cold storage must go on long enough (12 to 15 days), and must end with a filtration carried out at the minimum temperature.

The author concludes with a report on red wine preserving tests made at various temperatures. At 3 °C the development of wine and its gustative maturation are much slower than at a normal temperature ; the colouring intensity decreases in a much slower way and yet, contrary to what could be expected, the change towards the tile-shaded colour develops as rapidly at a low temperature as at 15 °C.

DIE KÄLTEBEHANDLUNG DER WEINE

R. CASSIGNARD

Zusammenfassung

Die Kältebehandlung der Weine hat sich im Hinblick auf die Erhaltung ihrer Klarheit mit dem Fortschritt der Kälteindustrie entwickelt, ist aber noch sehr stark auf empirische Beobachtungen angewiesen. Der Verfasser macht darauf aufmerksam, dass die Einwirkung von Kälte auf junge Weine, die einen Überschuss an verschiedenen organischen und mineralischen Substanzen in gelöster Form oder in Suspension enthalten, unbedingt zu Ausfällungen führt. Wenn man den Wein auf eine dem Gefrierpunkt nahe Temperatur bringt und anschliessend filtriert, können Weinstein, neutrales Kalziumtartrat, Farbstoffe und Gerbstoffe in kolloidem Zustand, Ferriphosphat, Eiweisssubstanzen, Pektine und andere Polysaccharide entfernt werden. Die geschmacklichen Eigenschaften der Weine sind nach der Kältebehandlung verfeinert ; sie schmecken abgerundeter und weniger herb.

Der Verfasser präzisiert die für die Praxis notwendigen Bedingungen der Kühlung. Sie soll bei grob filtrierten oder zentrifugierten Weinen, die genügend Schwefelige Säure enthalten, angewendet werden. Um die gewünschte Wirkung auf die Weinsteinausfällung zu erreichen, muss die Verweilzeit in der Kälte entsprechend verlängert (12-15 Tage) und die Filtration bei der tiefen Temperatur durchgeführt werden. Der Autor schliesst mit dem Bericht über Konservierungsversuche von Rotweinen bei verschiedenen Temperaturen. Bei 3 °C geht die Entwicklung und der geschmackliche Reifeprozess des Weines langsamer vor sich als bei normaler Temperatur. Die Farbintensität nimmt langsamer ab, jedoch entwickelt sich wider Erwarten der Farbübergang zu einer ziegelroten Färbung bei niedriger Temperatur fast ebenso schnell wie bei 15 °C.

IMPIEGO DEL FREDDO NEL TRATTAMENTO DEI VINI

R. CASSIGNARD

RIASSUNTO

L'impiego del freddo nel trattamento dei vini in vista della stabilizzazione della loro limpidezza si è sviluppato parallelamente ai progressi dell'industria del freddo, ma è ancora fondato su basi troppo empiriche. L'autore ricorda che l'azione del freddo sui vini nuovi, che contengono in soluzione o in sospensione un eccesso di diverse sostanze organiche o minerali, si traduce unicamente in insolubilizzazioni e precipitazioni. Per permanenza del vino ad una temperatura vicina del punto di congelazione, seguita da una filtrazione, possono essere cosi eliminati : del bitartrato di potassio e del tartrato neutro di calcio, delle materie coloranti e dei tannini allo stato colloidale, del fostato ferrico, delle sostanze proteiche, delle pectine ed altri polisaccaridi. Le qualità gustative dei vini giovani sono migliorate dopo trattamento col freddo ; essi divengono più pastosi, meno acerbi.

L'autore precisa le condizioni pratiche della refrigerazione, che deve fra l'altro essere effetuata su vini grossolanamente filtrati o centrifugati e che abbiano ricevuto una aggiunta sufficente di acido solforoso. Per essere efficace sulla precipitazioni tartariche, la permanenza al freddo deveessere sufficentemente lunga (12 à 15 giorni) deve conchiadersi con una filtrazione effettuata alla temperatura minima.

L'autore termina con il resoconto di prove di conservazione dei vini rossi a differenti temperature. A 3 °C l'evoluzione del vino e la sua maturazione gustative sono molto più lente che alla temperatura normale ; l'intensità colorante diminuisce molto più lentamente e tuttavia, contrariamente a quanto ci si sarebbe potuti attendere, la trasformazione del colore verso la tinta rosso mattone (« teinte tuilée ») è quasi ugualmente rapida a bassa temperatura che a 15 °C.

EMPLEO DEL FRIO EN EL TRATAMIENTO DE LOS VINOS

R. CASSIGNARD

RESUMEN

El empleo del frio en el tratamiento de los vinos con miras a la estabilización de su limpieza se desarrolla con el progreso de la industria del frio, pero est atodavia fundadó sobre bases muy empiricas. El autor recuerda que la acción del frio sobre los vinos nuevos, que contienen en disolución un exceso de diversas substancias órganicas o minerales se traduce unicamente por una insolubilización y precipitación. Por una permanencia del vino a una temperatura vecina del punto de congelación seguida de una filtración, se le puede eliminar el bitartrato de potasio, el tartrato neutro de calcio, las materias colorantes y los taninos al estado coloidal, el fostato ferrico, las materias proteicas, las pectinas y otros polisacaridos. Las cualidadas gustativas de los vinos jovenes son mejoradas despues de un tratamiento por el frio, ellos se transforman en mas suaves, menos duros.

El autor precisa las condiciones prácticas de la refrigeración. Entre otras debe estar efectuada sobre vinos grosseramente filtrados o centrifugados y habiendo recibido una dosis suficiente de ácido sulfuroso. Para que sea eficaz sobre las precipitaciones tartaricas la permanencia en el frio debe ser suficientemente prolongada (12 a 15 dias) y debe terminarse por una filtración efectuada a la temperatura minima.

El autor termina exponiendo los ensayos de conservación de vinos tintos a diferentes temperaturas. A 3 °C la evolución del vino y su maduracion gustativa son mucho mas lentos que a la temperature normal, la intensidad colorante disminuye mas lentamente, y sin embargo contrariamente a lo que uno podria esperar, la transformación del color hacia el matiz de vino viejo « rojo teja » evoluciona casi tan rápidamente a baja temperatura que a 15 °C.

DISCUSSION

M. NARCISSE (Cognac) : La réfrigération peut-elle abaisser suffisamment l'extrait sec des vins pour fausser l'interprétation des règles œnologiques ?

M. JAULMES (Montpellier) : Pour répondre à la question posée par M. NARCISSE, je rappellerai un mémoire de FONZES-DIACON sur l'action du froid de l'hiver sur la composition des vins et la recherche du mouillage. Il faut en effet être prudent pour l'application des règles œnologiques françaises à ces vins réfrigérés.

Je complimente M. CASSIGNARD pour son très intéressant et très complet exposé. Je me demande s'il n'y aurait pas intérêt à mettre le vin à l'abri de l'oxygène atmosphérique, c'est-à-dire en atmosphère inerte avant, pendant le refroidissement et pendant le réchauffement, la solubilité de l'oxygène étant plus grande à basse température qu'à la température ordinaire. On éviterait, sans doute, ainsi une action oxydante sur les substances très oxydables du vin.

Réponse : En effet nous avons pu constater pour des vins blancs liquoreux de la récolte 1959 stabilisés par le froid, une profonde oxydation qui avait fait disparaître l'acide sulfureux libre de ces vins. En ce qui concerne nos essais de conservation à diverses températures, précisons que les vins ont été conservés en bouteilles pleines et bouchées, sans apport d'oxygène autre que celui dissous dans le vin au moment de la mise en train des essais.

M. RADOMISELSKY (Tel-Aviv, Israël) : Avez-vous formulé des conclusions gustatives sur les vins conservés pendant 8 mois aux températures de 3, 15 et 30 °C ? Avez-vous également effectué des essais de stabilité biologique après la conservation à ces différentes températures ?

Réponse : A l'étuve (30 °C), les échantillons non sulfités paraissent « brûlés » et oxydés ; une addition préalable de 50 mg d'acide sulfureux par litre atténue fortement cette impression. A 15 °C le témoin ne paraît pas « brûlé », mais est très légèrement oxydé ; l'action de l'acide sulfureux est ici plus faible mais élimine la légère oxydation. A 3 °C le vin paraît beaucoup plus jeune et moins évolué ; il n'est pas oxydé.

L'acidité volatile (0,35 g par litre à la mise en train de l'expérience) n'a montré aucune évolution en 8 mois à 3 °C, alors qu'elle a augmenté de 0,10 à 0,15 g par litre à 15 et à 30° C. Les vins étaient exempts de sucre fermentescible et d'acide malique. Les essais de stabilité biologique à l'air n'ont pas été effectués.

PRÉVENTION DES PRÉCIPITATIONS TARTRIQUES

C. CANTARELLI

Institut des Industries agricoles, Université de Pérouse (Italie)

Le moût de raisin et le vin contiennent des ions organiques et minéraux dont la concentration est critique, atteignant les limites de solubilité. Par l'effet du refroidissement, de la formation d'alcool et de la désacidification, ils produisent cependant des précipitations cristallines, que l'on appelle communément « tartre ». Ce terme est justifié par le fait que les ions tartriques et bitartriques salifiés avec le K^+ et le Ca^{++} représentent la plus grande partie des dépôts salins que l'on peut recueillir dans les récipients de conservation du vin. On peut toutefois prévoir l'intervention d'autres anions, dont la concentration pourrait être assez élevée pour engendrer la précipitation de sels potassiques et calciques. Nous avons expérimentalement trouvé les données suivantes relatives aux solubilités de quelques sels organiques présents dans le vin.

TABLEAU 1

Solubilité de quelques sels des acides organiques du vin
en g de sel anhydre dans 100 ml à la température de 0 °C

	Solubilité dans l'eau	Solubilité dans l'alcool à 10°
Sels de calcium		
d-gluconate	2,953	1,260
citrate	0,112	0,042
l-malate	0,191*	0,092
succinate	9,379*	4,564
d-tartrate	0,026	0,006
Sels de potassium		
d-bitartrate	0,227	0,126
d-bimalate	12,488	7,126

* Toutes ces données sont en accord avec celles que l'on trouve dans la littérature, sauf les deux suivantes, pour lesquelles BEILSTEIN indique :
Succinate de calcium : 0,193 % à 10° dans l'eau.
Malate de calcium : 0,812 % à 0° dans l'eau.

On peut en outre envisager, suivant les études de KIELHÖFER (12), KLEEBERG (13) et RENTSCHLER (23), que les sels de calcium des acides oxalique, mucique, gluconique et subérique peuvent donner des troubles cristallins dans les vins.

Suivant la mise au point faite par MICHOD (17) les précipitations salines doivent être distinguées en :

— gravelle potassique, due principalement au bitartrate et en faible partie au bimalate et au tartrate ;

— gravelle calcique, due au tartrate, malate, succinate, oxalate et aux autres anions mineurs déjà indiqués.

Les deux sortes de gravelle ne correspondent pas seulement à un classement d'ordre théorique ; les formations de dépôts par les sels de K^+ et de Ca^{++} diffèrent sensiblement par leur époque et leur manifestation, les premières se produisant essentiellement à la fin de la fermentation, et par effet du refroidissement, et les secondes, plus lentes parce que moins sensibles aux abaissements de température et à la présence d'alcool, pouvant donner des précipitations même pendant la deuxième année de conservation (6).

Les conditions de formation et de précipitation des sels peu solubles des acides du vin ont été le sujet de plusieurs études physico-chimiques, dont on a déduit des notions applicables à la pratique (5, 11, 19). En travaillant soit sur des systèmes-modèles synthétiques soit sur les vins, on a cherché à établir des données « œnométriques » qui permettraient de prévoir l'ordre de grandeur et la vitesse du phénomène de précipitation du tartre. Le Traité d'Œnologie de RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD comprend une revue complète à ce sujet (24).

Notamment, NÈGRE (18) propose une formule permettant de prévoir le poids de bitartrate de potassium restant en solution dans un vin équilibré à une température donnée. Egalement USSEGLIO-TOMASSET (31) a rédigé des tables pour le calcul des quantités limites d'acide tartrique et de potassium pour la précipitation saline. BERG et KEEFER (2) ont réalisé un remarquable travail de mise au point des données relatives à la précipitation du bitartrate de potassium et du tartrate de calcium. Les facteurs conditionnant les précipitations qui ont été prises en considération sont (outre la concentration en anions et cations, le degré alcoolique et la température) le degré de dissociation du tartrate suivant la concentration en alcool de la solution, l'intervention des autres anions du vin (malate, lactate, citrate et succinate) et la force ionique des solutions.

Il ressort de ces expériences que, même en tenant compte très soigneusement de ces facteurs, les données théoriques sur la solubilité des tartrates de potassium et de calcium sont bien loin des valeurs expérimentales trouvées pour différentes sortes de vins. La vitesse de cristallisation et de précipitation de ces sels dans les vins est nettement inférieure à celle observée dans les systèmes-modèles.

Plusieurs facteurs ont été mis en cause pour éclaircir cette différence par BERG et KEEFER, soit : la présence de tartrates complexes, la dissociation incomplète des sels de calcium, l'intervention du magnésium (et d'autres cations secondaires).

A ces facteurs il faut ajouter (MICHOD, 17) : l'état de sursaturation des tartrates dans le vin ; l'existence de complexes formés par le calcium avec d'autres ions organiques que l'acide tartrique, de telle sorte qu'il y aurait un « masquage » de ce cation. Il faut remarquer à ce propos que la capacité à former des complexes avec les métaux lourds est beaucoup plus grande pour les acides organiques à l'état salifié qu'à l'état libre (22).

Enfin, il faut rappeler les observations de plusieurs auteurs (voir 24) sur d'autres facteurs moins définis qui interviennent dans la vitesse de cristallisation des tartrates dans le vin, tels que : la présence d'autres acides organiques, dont GENEVOIS (8) a montré l'efficacité sur la solubilisation de l'acide tartrique ; la présence de sucres :

le saccharose, suivant USSEGLIO-TOMASSET (31) diminuerait le produit de solubilité du bitartrate de potassium ; la présence de « pigments oxydables » aurait un effet accélérant sur la cristallisation du bitartrate, suivant les expériences de MARSH et JOSLYN (16) pour les vins de Porto, de BERTI et BALDWIN (3) sur les vins rouges ; certains colloïdes naturels des vins (gommes et pectines) entraveraient la précipitation des tartrates, affirme MICHOD (17), la richesse en extrait règle, suivant MARSH (15), la vitesse de l'apparition de la gravelle, les vins secs donnant lieu au dépôt de tartre beaucoup plus rapidement que les vins doux ou, de toute façon, les vins riches en matières extractives.

Bien que les précipitations salines ne représentent qu'une étape de l'évolution normale des vins jeunes et ne soient donc que des accidents sans conséquences pour la qualité réelle des vins, toutefois la recherche des moyens qui peuvent les empêcher a pris de plus en plus d'importance ces dernières années, à cause de la nécessité croissante de pouvoir disposer de vins jeunes assez stables pour la mise en bouteille. Le marché de ces vins courants de table conditionnés s'est en effet énormément accru ces dernières années, surtout dans des pays vinicoles comme l'Italie.

Les moyens de préserver artificiellement les vins de la gravelle sont essentiellement de trois ordres :

— accélérer la cristallisation par le froid et éliminer par filtration les cristaux une fois formés ;
— soustraire ou substituer les cations gênants ;
— avoir recours aux produits inhibiteurs de la cristallisation.

TRAITEMENT PAR LE FROID

Ce traitement a été le premier à être appliqué, les premières installations à l'échelle industrielle remontant à plus de trente ans ; toutefois, même en disposant d'une riche documentation technique, il faut reconnaître, avec RIBÉREAU-GAYON et PEYNAUD (24), qu'il manque une étude systématique des phénomènes qui se passent lors de la réfrigération du vin. Il faut admettre, d'ailleurs, que la réalisation d'une série d'essais de ce genre présente des difficultés techniques et que l'intervention des fabricants d'appareillages a en quelque sorte faussé la définition des conditions réelles qui règlent ce genre de traitement.

Le mécanisme d'action du froid est d'ailleurs très simple ; suivant les données de la pratique il résulte que l'effet du froid est d'autant meilleur pour affecter les précipitations salines qu'il est plus brusquement appliqué : de cette façon se forment de petits cristaux et le phénomène d'insolubilisation des tartrates s'accomplit plus rapidement.

Les progrès résident donc, évidemment, dans une amélioration des appareillages frigorifiques pour ce qui concerne les moyens d'échange thermique et l'économie d'exercice. La réfrigération directe à l'intérieur des cuves étant décidément dépassée, les problèmes actuels sont ceux relatifs aux moyens d'obtenir le refroidissement plus rapidement, et d'empêcher la formation de dépôts sur les surfaces internes des appareils (28).

On recommande des installations de prérefroidissement sur plaques qui permettent d'atteindre plus rapidement les températures finales de refroidissement. Avec ces appareils on peut d'ailleurs réaliser une importante récupération de frigories du vin sortant de la cuve calorifugée à la fin de la période de garde ; dans ce cas le vin doit être filtré par filtre calorifugé et il faut disposer d'une cuve-tampon.

On a également conseillé (15) l'installation d'un réfrigérateur de petite puissance pour maintenir la basse température acquise par le vin pendant la période de garde.

D'autres moyens qui facilitent et accélèrent la formation et l'accroissement des cristaux peuvent être prévus, tels que : le brassage mécanique pendant la garde au froid, au moyen d'un mélangeur à vitesse lente, suggéré par HOLDEN (10) ; l'élimination préventive des matières colloïdales qui entravent la formation des cristaux, soit par moyens physiques (centrifugation ou filtration), soit par collage et traitement à la bentonite ; l'augmentation du rapport entre les surfaces et le volume du liquide ; l'adjonction de germes cristallins, surtout dans le cas où le vin aurait été préalablement chauffé, en utilisant un mélange de bitartrate de potassium et de tartrate de calcium.

En ce qui concerne les températures à atteindre et la durée de séjour dans les cuves calorifugées, on ne dispose que d'indications empiriques, ces conditions étant liées au type de vin à traiter, au degré alcoolique, à la teneur en sels à cristalliser (de calcium tout particulièrement), à la quantité d'extrait ou, finalement, aux limites de stabilité qu'on veut atteindre (26, 29).

L'empirisme avec lequel il faut forcément appliquer ce traitement est certainement nuisible, surtout au point de vue économique. On a justement remarqué que ce traitement est relativement onéreux et ne donne pas des garanties absolues de stabilité, surtout si le vin est riche en calcium; il convient d'ailleurs d'empêcher par la suite tout enrichissement en calcium du vin traité.

Les résultats sont en tous cas meilleurs que ceux obtenus par les autres moyens de stabilisation, en ce qui concerne la durée de l'effet et les caractères organoleptiques, quoique la chute de la teneur en extrait puisse assez souvent paraître préjudiciable pour l'harmonie de la constitution du vin et produise une sensation de « vide » à la dégustation.

TRAITEMENT PAR ÉCHANGE D'IONS

Quoique la réfrigération elle-même puisse en quelque sorte être considérée comme un moyen d'élimination des ions gênants, on peut avoir recours aujourd'hui à des moyens beaucoup plus directs, tels que les échangeurs d'ions.

L'application de ces produits remonte à une douzaine d'années, mais une abondante bibliographie est parue à ce sujet et d'ailleurs cette technique est désormais assez répandue et, dans certains pays, largement appliquée, surtout à la stabilisation des vins courants. Il faut remarquer, d'ailleurs, que le but de ces traitements n'est pas seulement la prévention de la gravelle, mais celle de bien d'autres causes d'instabilité des vins et de leur correction.

Les techniques préconisées pour obtenir la stabilisation contre la gravelle peuvent être ainsi définies : remplacement ou soustraction des ions gênants. Remplacement du calcium et du potassium par des cations qui donnent des sels solubles (sodium et magnésium) : cet échange est possible par résines échangeuses de cations en cycle sodique (ou, comme on l'a aussi affirmé, en cycle sodique-magnésien), étant donné que l'ordre d'affinité pour les différents cations est décroissant avec la valence et le nombre atomique, soit $H < Na < K < Mg < Ca$. Ce caractère est d'autant plus poussé que la résine est plus acide et plusieurs auteurs (7, 9, 14) recommandent unanimement les résines sulfoniques comme celles qui donnent les résultats les meilleurs pour la prévention des précipitations tartriques. Ce traitement enlève surtout du calcium, qui est d'ailleurs le cation le plus dangereux pour la gravelle. Par traitements à l'échelle expérimentale RANKINE (22) a obtenu une baisse de la teneur en potassium

et en calcium de 40 à 50 % avec du Zeo-Karb 225 ; RIBÉREAU-GAYON et ses collaborateurs (25) ont atteint une élimination du calcium de 90 % environ, contre 42 % au maximum pour le potassium. Dans ces conditions une bonne partie du magnésium peut être également soustraite au vin ; par contre la teneur en sodium atteint des valeurs qui sont quatre à cinq fois la teneur initiale : la tenue au froid des vins ainsi traités est absolument garantie.

Il faut toutefois remarquer que ce changement de composition saline n'est pas sans conséquences pour les caractères organoleptiques de la boisson, comme ont dû le reconnaître tous les techniciens avisés qui essayèrent ce traitement. AUSTERWEIL (1) attribue ce changement de goût à la formation de sel de Seignette, et d'ailleurs le rôle des cations, tels que le potassium, est bien connu pour avoir une importance fondamentale dans le goût du bon vin.

La soustraction des cations gênants peut être réalisée avec les mêmes résines à échange cationique, en cycle acide ; l'effet correspond à une acidification directe avec une amélioration évidente dans les cas des vins dont l'acidité fixe est trop basse, mais qui déséquilibre nettement la composition des vins normaux. Ce traitement doit dans ces cas être exécuté par double échange, avec un traitement successif par résine à échange anionique. L'utilisation de cette dernière demande certains soins dans la régénération, étant moins durable et pouvant libérer des fractions solubles. Dans l'ensemble ce traitement, appliqué à la prévention de la gravelle, semble beaucoup trop compliqué pour les résultats qu'il pourrait donner : le vin en ressort nettement dénaturé, sa tenue n'étant d'ailleurs pas bien garantie, à moins de laisser une marge assez grande à l'augmentation d'acidité.

En conclusion, le traitement avec échangeurs d'ions, dans la forme d'échange sodique simple, présente des caractères d'économie et d'efficacité qui peuvent le faire préférer au traitement frigorifique, surtout si l'on considère d'autres résultats également importants pour la stabilité de la boisson, tels que l'abaissement de la teneur en cations lourds, que l'on peut obtenir de cette façon.

Le traitement modifie d'ailleurs profondément la composition et l'équilibre salin du vin, produit des changements et des pertes de goût et compromet les possibilités futures d'évolution pendant le vieillissement. Enfin, ce qui a une certaine importance pour les vins courants de table auxquels cette technique est le plus souvent appliquée, elle touche à la valeur nutritive et aux caractères hygiéniques de cette boisson.

On ne saurait donc recommander cette pratique que pour des raisons d'économie, jusqu'à un certain point pour les vins courants jeunes (surtout les vins blancs) et uniquement avec l'échange simple en cycle sodique, à ne réaliser que sur une partie du vin à stabiliser.

Rappelons enfin, comme un cas particulier de traitement physique contre la gravelle, qui se rattache en quelque sorte aux traitements avec résines, l'emploi du charbon actif, suggéré par des auteurs américains (3).

INHIBITEURS DE LA CRISTALLISATION

On a déjà remarqué que les données théoriques sur la cristallisation tartrique étaient toujours faussées par excès, parce que dans les vins ce phénomène est retardé par l'intervention d'autres constituants de l'extrait. L'adjonction de gomme arabique, préconisée comme stabilisant pour les troubles métalliques, a révélé une certaine efficacité pour retarder les précipitations tartriques. Egalement PEYNAUD (20) a

remarqué que les polyphosphates utilisables comme protecteurs contre la casse ferrique entravent nettement la cristallisation du bitartrate. Finalement, SCAZZOLA (27) a proposé avec grand succès il y a quelques années l'utilisation du polylactide tartrique (dit conventionnellement « acide métatartrique ») comme stabilisant contre la gravelle. Gomme arabique, polyphosphate et lactide tartrique ont tous des dimensions moléculaires assez grandes pour donner des pseudosolutions colloïdales ; également les gommes et les pectines, dont MICHOD (17) a remarqué une action de retard sur la formation de la gravelle dans les vins blancs jeunes, sont des colloïdes.

Ces analogies nous ont suggéré un examen analytique de l'effet exercé sur la cristallisation des tartrates par différentes substances qui entrent dans la constitution des vins, ainsi que par d'autres, utilisées couramment en œnologie. Nous avons exécuté une série d'essais en prenant en considération différents sucres, polyoses et polyalcools (arabinose, glucose, saccharose, raffinose, dextrine, pectine, carboxyméthylcellulose, gomme arabique, gélose, glycérol et butanediol), matières protéiques (albumines, gélatine, caséine), polyphénols (acide tannique, anthocyannes, leucoanthocyannes) et autres produits d'emploi technique tels que : versène, hexamétaphosphate sodique, bentonite, charbons actifs, polyvinylpyrrolidone (ce dernier à différents degrés de polymérisation), en comparaison du polylactide tartrique.

TABLEAU 2

Précipitation des sels peu solubles de potassium et de calcium des acides organiques du vin en présence des lactides de différents oxyacides

Solutions saturées en mélange hydroalcoolique à 10 %, maintenues à + 2 °C.
(la formation du précipité est indiquée par + ; tr. = traces)

Lactides ajoutés		*Lactides des acides*				
		Témoin	*tartrique*	*malique*	*citrique*	*lactique*
Dose (mg/100 ml)		néant	15	64	80	4
Titre (% acide estérifié)		—	43	24	9	70
	Temps séjour à + 2 °C (jours)					
Bitartrate de potassium	1	+++	—	tr.	+	tr.
	5	+++	tr.	+	++	+
	12	+++	+	++	+++	++
	18	+++	+	++	+++	++
Tartrate neutre de calcium	1	++	—	tr.	—	+
	5	++	tr.	tr.	tr.	++
	12	+++	+	++	++	+++
	18	+++	+	++	++	+++
Bimalate de potassium	1	—	—	—	—	—
	5	—	—	—	—	—
	12	+++	tr.	+++	++	+
	18	+++	++	++++	+++	+++
Malate de calcium	1	+	—	—	—	+
	5	++	—	—	—	++
	12	++	+	tr.	tr.	+++
	18	+++	++	tr.	tr.	+++
Succinate de calcium	1	—	—	—	—	—
	5	+	—	—	—	tr.
	12	++	+	—	—	tr.
	18	+++	+	—	—	+

De nos essais il ressort que plusieurs constituants normaux des vins et produits d'emploi œnologique plus ou moins courant exercent une inhibition sur la cristallisation des tartrates. Cet effet est particulièrement évident, en plus du polylactide tartrique, pour la carboxyméthylcellulose et les phosphates condensés ; à un degré nettement inférieur pour la gomme arabique, les clarifiants protéiques et similaires et finalement pour des constituants normaux des vins, tels que : les sucres, le glycérol et le tanin gallique. D'autre part les polyphénols, tels que les anthocyannes, les catéchols et les leucoanthocyannes ne semblent pas intervenir dans une mesure importante, quoique les vins qui en contiennent davantage laissent cristalliser plus lentement leurs tartres.

L'emploi de produits capables d'empêcher d'une manière durable la cristallisation pourrait donner pour la plupart des cas entière satisfaction, car ce moyen de stabilisation serait beaucoup plus simple et plus rapide à appliquer que les autres précédemment décrits, et pourrait revenir aussi moins cher. Evidemment l'inhibiteur doit être irréprochable au point de vue hygiénique, il doit être économique, facile à employer et d'un effet durable. Ce sont justement les caractères du produit appelé « acide métatartrique », hormis la stabilité, qui dans la plupart des cas est toutefois suffisante pour le traitement des vins courants à brève période de conservation.

Le pouvoir stabilisant du lactide tartrique est désormais trop connu et son emploi tellement généralisé qu'il n'est évidemment pas nécessaire de souligner son importance dans la technologie de la préparation des vins à embouteiller, surtout dans le cas des vins jeunes.

Il faut toutefois admettre que, bien que son emploi soit si répandu, les connaissances théoriques sur ce produit sont plutôt incomplètes. Plusieurs études ont été dédiées aux conditions d'application de ce qu'on appelle conventionnellement « acide métatartrique » (4, 21). PEYNAUD et GUIMBERTEAU de l'Ecole bordelaise ont publié beaucoup de données très intéressantes sur la constitution de ce lactide et sur les caractères des préparations commerciales, avec des considérations approfondies sur son mécanisme d'action. Je me suis directement occupé des problèmes relatifs au dosage du lactide et de la détermination des vitesses de condensation et d'hydrolyse, ainsi que de la mesure de son entraînement par les autres traitements œnologiques de stabilisation des vins.

Rappelons ici quelques données relatives au polylactide tartrique qui ont une importance technologique.

Les caractères des préparations de ce produit diffèrent sensiblement suivant les conditions de temps et de pression. On peut ainsi obtenir des préparations dont la solubilité, l'hygroscopicité, ainsi que la teneur en lactide (liaisons esters) et en produits secondaires (voire la couleur) sont très différents, à tel point qu'il y a lieu de supposer que la polymérisation suit une autre allure et que le polymère qui se forme dans ces différentes conditions a une structure spatiale variée. En effet, dans les conditions normales (temp. 170°, pression ambiante) l'interestérification, exprimée par la perte de carboxyles libres titrables, atteint son maximum après 40 à 60 mn. A ce moment, comme nous l'indiquent PEYNAUD et GUIMBERTEAU, le produit n'est plus fractionnable ; ensuite, tout en perdant progressivement du poids, le produit devient de moins en moins soluble. Suivant les conditions de préparation, ces auteurs trouvent une efficacité différente quant à la cristallisation du tartrate de calcium et du bitartrate de potassium, la première étant plus sensible à la qualité du produit.

En ce qui concerne le titre du produit, nous avons trouvé par dosage du lactide comme à l'état d'hydroxammate, que celui-ci peut atteindre des valeurs assez proches

de 100 % d'estérification, toutefois la portion soluble et donc utilisable ne dépasse guère, même dans les préparations de laboratoire, 45 à 47 % .

Sur la vitesse d'hydrolyse du lactide, exprimée par la tenue des vins traités, on obtient dans la littérature des données assez variables, liées évidemment aux types de vin (acidité et teneur en sels cristallisables) et aux conditions de conservation (température).

Nous avons suivi la marche de l'hydrolyse en solutions simples avec détermination des constantes relatives ; aux pH des vins (entre 3 et 4) l'hydrolyse correspond à une réaction de premier ordre, la vitesse étant d'autant plus grande que le pH est plus bas et la température plus élevée. On a pu ainsi établir, par exemple, qu'entre 20 et 25 °C, suivant l'équation d'Arhenius, la vitesse d'hydrolyse est plus que triplée, les $K^{(sec-1)}$ étant respectivement 1,3 contre 7,0, ce qui correspond assez bien, d'ailleurs, à ce qu'ont trouvé PEYNAUD et GUIMBERTEAU en déterminant la stabilité des vins traités.

On a en outre constaté que la plupart des traitements stabilisants et correctifs, ainsi que la pasteurisation affectent la teneur en acide métatartrique ajoutée au vin. Dans nos conditions expérimentales certains charbons actifs, les résines anioniques et cationiques, la bentonite et les clarifiants protéiques ajoutés à doses tout à fait courantes peuvent éliminer jusqu'à la totalité de l'acide métatartrique en solution.

Un problème analytique intéressant pour le technicien avisé est la détermination de la teneur en acide métatartrique du vin au moment de la mise en vente, pour être assuré de la tenue à la gravelle de son produit. Ce dosage présente de grandes difficultés, un dosage direct étant évidemment impossible, la concentration du produit étant trop basse pour un dosage titrimétrique par saponification et la présence des esters et des polyphénols gênant le dosage colorimétrique.

Nous avons essayé d'obtenir la séparation chromatographique du produit à l'état d'hydroxammate ; on a mis au point une méthode relativement simple et grossièrement quantitative, basée sur la séparation des dérivés hydroxammiques préparés sur le vin neutralisé et concentré au moyen de solvants tels que :

— Acide formique 85 % - acide chlorhydrique (99,5 : 0,5).
— Pyridine - éthanol 95° - eau (1 : 2 : 2).
— m-Crésol - acide chlorhydrique 5,5 n - acide acétique glacial (1 : 1 : 1).

On révèle par formation du dérivé ferrique de l'hydroxammate tartrique dont le Rf (0,60-0,55-0,45) est nettement différencié.

Une question physico-chimique intéressante se pose : de quelle manière le lactide tartrique empêche-t-il la cristallisation des tartrates ?

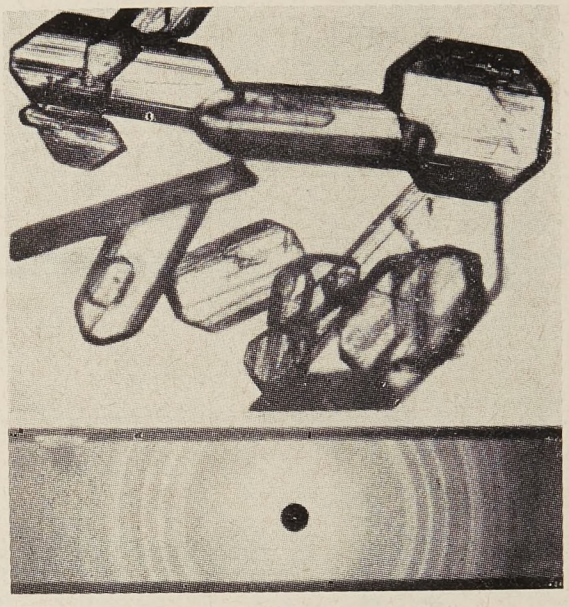
Dans le travail de PEYNAUD et GUIMBERTEAU il y a une mise au point des différentes interprétations de ce mécanisme, suggérant que l'inhibition de la cristallisation intervient par l'arrêt de l'accumulation moléculaire dans le cristal, ce qui mettrait en jeu des phénomènes de surface.

L'effet antitartre semblerait donc indépendant des caractères plus strictement chimiques du produit ; on pourrait cependant supposer que tout produit pouvant intervenir au niveau de ces phénomènes de surface pourrait inhiber la cristallisation. D'autre part, il faut supposer que cette inhibition ne regarde pas seulement les tartrates, mais aussi bien les sels peu solubles.

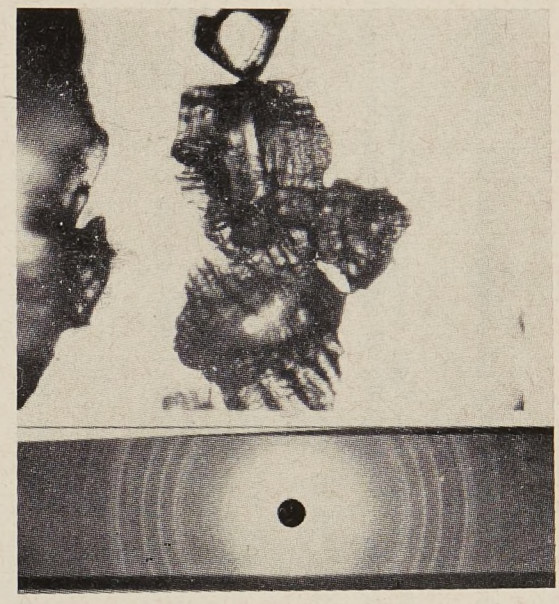
Nous avons exécuté quelques essais pour examiner ces faits. En premier lieu on a constaté que l'effet d'inhibition n'est pas uniquement exercé par le lactide tartrique. Nous avons préparé des lactides polymérisés à partir d'autres oxyacides qu'on trouve

dans les vins, tels que les acides malique, citrique et lactique. Nous avons pu vérifier que ces produits, même à des titres et des doses très différents, ont tous un pouvoir anticristallisant. Cet effet est exercé soit sur les tartrates, soit sur les sels d'autres anions ; enfin, pour un lactide donné, cet effet change suivant les différents sels (ainsi le lactide tartrique est moins efficace que les lactides malique et citrique pour empêcher la cristallisation du malate et du succinate de calcium et *vice versa* pour les tartrates).

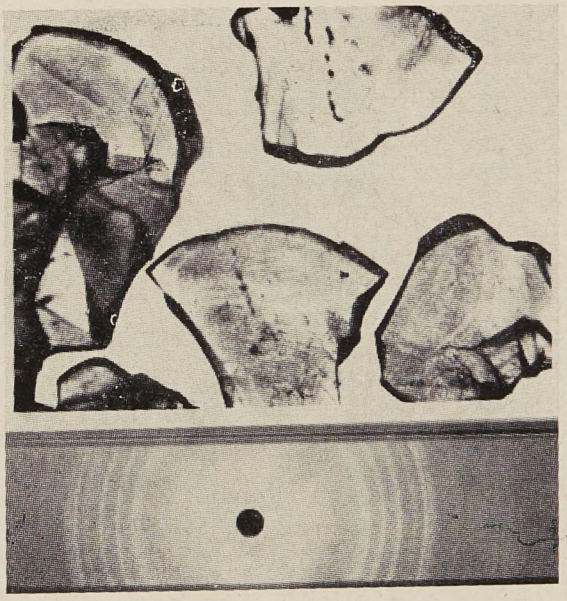
Aspect microscopique des cristaux (x 30 environ) et photographies des raies de diffraction aux rayons X, examen en chambre Seifert diam. 114,5 mm, anticathode en cuivre. Raies principales : 2,5-2,9 3,2 - 3,6 - 3,8 Å.



Cristaux de bitartrate de potassium formés en solution hydroalcoolique simple.



Cristaux de bitartrate de potassium formés en présence de lactide tartrique.



Cristaux de bitartrate de potassium formés en présence de carboxyméthylcellulose.

TABLEAU 3

Inhibition de la cristallisation des tartrates par différents composants du vin et produits œnologiques

Essais sur des solutions saturées de bitartrate de potassium ; l'inhibition était évaluée par dosage du tartrate restant en solution après 6 jours à + 2 °C ou par pesée du précipité obtenu par addition de *l*-tartrate d'ammonium et acétate de calcium suivant KLING.

Le degré d'inhibition de la cristallisation était calculé de la façon suivante :

— Cas de la précipitation à froid du bitartrate : $\textit{Inhibition}\ \% = \frac{100\ (C - B)}{(A - B)}$

où : A = KHT en solution à 25 °C ; B = KHT en solution après réfrigération dans l'essai témoin ; C = KHT en solution dans l'essai réel après réfrigération.

— Cas de la précipitation du racémate de calcium : $\textit{Inhibition}\ \% = \frac{100\ (A - B)}{A}$

où : A = racémate précipité dans le témoin ; B = racémate précipité dans l'essai réel.

Substance ajoutée	Dose (g/100 ml)	Précipitation à froid du KHT		Précipitation du racémate de Ca	
		Acide tartrique en solution (mg/100 ml)	Inhibition %	Racémate de Ca précipité (mg/100 ml)	Inhibition %
Témoin					
avant réfrigération		520			
après réfrigération		110		735	
Glycérol	0,5	=	=	535	27
	5	185	18	475	35
	10	=	=	463	36
Arabinose	2	145	8	=	=
Glucose	2	125	3	=	=
	10	160	12	568	23
	20	205	23	=	=

Saccharose	2	125	3	=	=
	10	140	7	583	20
	20	175	16	=	=
Raffinose	2	135	6	=	=
Dextrine	0,2	120	2	=	=
	2	140	7	643	12
Pectine	0,05	217	26	182	74
	0,2	310	48	125	82
Alginate	0,05	148	9	644	12
Gomme arabique	0,5	200	22	472	35
	5	215	25	389	47
Carboxyméthylcellulose					
Basse viscosité (7 LP)	0,01	302	46	=	=
	0,04	=	=	128	82
	0,20	340	56	88	88
	0,30	530	100	=	=
Haute viscosité (7 HP)	0,01	260	36	=	=
	0,02	=	=	300	58
	0,20	405	72	259	64
	0,30	522	100	=	=
Tanin (acide tannique)	0,02	=	=	692	6
	1	120	2	647	12
Ovalbumine	0,05	112	0	536	27
	0,1	160	12	562	23
Gélatine	0,05	132	5	602	17
	0,1	175	15	562	23
Polyvinylpyrrolidone					
Viscosité (cP) 1,55	0,01	=	=	565	23
	0,1	152	10	566	23
	0,2	=	=	174	76
Viscosité (cP) 1,92	0,01	=	=	692	6
	0,1	155	10	476	35
	0,2	=	=	465	39
E.D.T.A. sel disodique	0,04	140	7	644	12
Hexamétaphosphate sodium	0,2	=	=	72	90
	0,8	=	=	83	88
	2,0	510	97	24	96
Bentonite	0,1	127	4	=	=
Charbon actif (Enorit)	0,1	147	9	=	=
Lactide lactique	0,04	120	2	=	=
Lactide citrique	0,04	132	5	=	=
Lactide malique	0,04	180	17	255	65
	0,8	310	48	122	82
Lactide tartrique	0,04	222	27	126	82
	0,8	340	56	22	97

Nous avons encore examiné certains caractères physiques des solutions des inhibiteurs de cristallisation qui interviennent dans les phénomènes de surface : soit la densité, la viscosité et la tension superficielle.

On a pu remarquer, en effet, qu'au fur et à mesure de la polymérisation du polylactide tartrique pendant le chauffage, sa viscosité augmente et la tension superficielle de ses solutions s'abaisse, en même temps qu'il devient moins soluble et plus actif.

TABLEAU 4

Evolution des caractères du polylactide tartrique au cours de sa synthèse

Temps de chauffage à 170 °C en mn	Perte de poids (g %)	Fraction soluble %	Acide tartrique précipitable	Trouble avec acétate calcium	Titre	Pouvoir (*) inhibiteur sur la ppt. du racémate	Caractères des solutions à 0,5 % (**) Densité à 20 °C	Viscosité cP	Tension superficielle Dine/cm² 20 °C
0	=	=	=	=	=	=	1,0018	1,04	71,5
30	0,70	100	+++	—	6	22	1,0022	1,06	71,3
60	2,46	100	+	—	13	46	1,0025	1,08	69,8
120	9,45	93	—	—	33	94	1,0026	1,07	69,9
180	12,05	80	—	—	36	96	1,0028	1,10	69,8
270	13,55	50	—	+	37	98	1,0032	1,08	68,0
420	14,33	32	—	+	42	96	1,0032	1,08	67,5

* A la dose de 0,05 g/100 ml de solution saturée de bitartrate de potassium.
** Filtrées par verre fritté Jena G3.

TABLEAU 5

Caractères physiques des solutions de quelques produits inhibiteurs de la cristallisation des tartrates et leur efficacité

Produits	Caractères des produits en solution				Effet inhibiteur		
	Concentration en % (p/v)	Densité à 20 °C	Viscosité cP à 20C°	Tension superficielle Din/cm² 20 °C	Dose employée	sur la ppt. du KHT	sur la ppt. du CaT (*)
Acide tannique	10,0	1,036	1,53	48,0	1,0	2	12
Polyvinylpyrrolidone**	1,0	1,010	1,55	68,7	0,1	10	23
Ovalbumine	1,0	1,001	0,99	54,6	0,1	12	23
Gélatine	1,0	1,002	1,04	50,0	0,1	15	29
Oléate de potassium	4,0***	0,996	1,65	30,7	0,4	15	29
Glucose	100,0	1,230	13,79	79,6	10,0	12	23
Gomme arabique	50,0	1,150	279,00	68,3	5,0	25	47
Pectine****	2,0	1,010	4,49	70,9	0,2	48	82
Carboxyméthylcellulose*****	1,0	1,012	25,05	60,3	0,1	56	88
Métaphosphate de sodium	20,0	1,131	2,53	55,0	2,0	97	96
Polylactide tartrique	2,4	1,011	0,87	67,8	0,8	56	97
Polylactide malique	5,5	1,019	1,01	62,2	0,8	48	82

* Comme racémate, par addition de *l*-tartrate d'ammonium et acétate de calcium (KLING).
** PVP K60 purum Fluka.
*** Solution contenant 2 % d'éthanol.
**** De pomme, purifiée, Fluka.
***** CMC 7LP Hercules Powder.

Ces faits ne peuvent pas, d'ailleurs, être transférés sur le plan général pour expliquer l'effet inhibiteur exercé par d'autres produits.

On a déterminé les mêmes caractères physiques sur les solutions de plusieurs substances différentes, dont on avait déterminé l'effet anticristallisant (soit sur le bitartrate de potassium, soit sur le racémate de calcium). Les résultats de ces mesures sont décevants, parce qu'aucune relation ne peut être clairement établie, soit entre l'effet inhibiteur sur la cristallisation et la viscosité, soit entre cet effet et l'abaissement de tension superficielle exercé par ces produits.

D'une façon analogue aux observations de PEYNAUD et GUIMBERTEAU, nous avons réalisé la cristallisation du bitartrate de potassium en présence de différents inhibiteurs, en obtenant des cristaux dont l'aspect macroscopique est dans chaque cas bien différent, dans quelques cas n'ayant même pas l'apparence de matière cristalline. Toutefois, à l'examen en lumière polarisée, ils sont tous optiquement actifs, et ce qui compte davantage, l'analyse par diffraction aux rayons X ne permet de déceler aucune différence de constitution, le réseau cristallin étant dans tous les cas exactement le même.

Ces quelques illustrations (p. 351) peuvent nous donner une idée de ces faits.

Par conséquent il faut envisager que les produits inhibiteurs n'agissent pas sur les paramètres du réseau cristallin. Ils n'interviennent pas par réaction avec les sels à cristalliser et aucun nouveau composé n'est formé. Ces produits agissent donc uniquement d'une façon indirecte sur le développement des faces, en modifiant la vitesse de leur propagation, sans altération du réseau du cristal ; il est vraisemblable qu'ils interviennent dans la dispersion des germes et dans leur nourrissage.

L'étude des substances inhibitrices pourra certainement offrir des perspectives nouvelles et révéler, outre les produits que nous avons indiqués, d'autres encore, ayant une plus grande efficacité. Il y a toutefois lieu de douter que l'excellente invention de SCAZZOLA puisse être remplacée, pour son efficacité, son bas prix et ses qualités hygiéniques ; la seule supériorité possible d'un nouveau produit ne pourrait être représentée que par une meilleure stabilité. Il y a des raisons de croire que l'emploi des produits anticristallisants a un bon avenir parmi les moyens de prévention de la gravelle, au moins pour les vins de consommation courante qui représentent la plus grande partie des produits à stabiliser. La recherche dans cette direction pourrait donc être bien rentable.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(1) G.V. AUSTERWEIL. Confér. S.C.I., Ion Exchange Symposium, Londres, 1954. (2) H.W. BERG et R.M. KEEFER. *Amer. Jour. Enol. Vitic.*, 1958, **9**, 180 ; 1959, **10**, 105. (3) L.A. BERTI et G. BALDWIN. *Amer. Soc. Enol. Proceed.*, 1952, **3**, 173. (4) C. CANTARELLI. *Vini d'Italia*, 1961, **3**, 295. (5) M. DUBOUX et D. TSAMADOS. *Helv. Chim. Acta*, 1929, **7**, 874. (6) D. FLORENTIN. *Rev. Vinicole*, 1956, **57**, 27. (7) P.G. GAROGLIO. *La nuova enologia*, Firenze, 1959, p. 727. (8) L. GENEVOIS. *Ann. Brass. Dist.*, 1934, **32**, 310, 326, 337. (9) K. HENNIG. *Deutsch. Weinzeit.*, 1953, **89**, 137. (10) C. HOLDEN. *Food Technol.*, 1954, **8**, 565.

(11) B.V. IVANOFF. *Vinodel. Vinograd.*, 1947, **7**, 17. (12) E. KIELHÖFER et G. WÜRDIG. *Weinblatt*, 1963, **57**, 124 ; *Deutsch. Apoth. Zeit.*, 1961, **101**, 853. (13) W. KLEEBERG. *Weinblatt*, 1962, **56**, 658. (14) V. KRUMPHANZL. *Kvasny Prumysl.*, 1962, **8**, 58. (15) G.L. MARSH. *Refrigeration Data Book*, New York, 1950, p. 351. (16) G.L. MARSH et M.A. JOSLYN. *Ind. Eng. Chem.*, 1935, **27**, 1252. (17) J. MICHOD. *Bull. O.I.V.*, 1953, **26**, 143 ; *Ann. Agric. Suisse*, 1954, **55**, 915 ; *Rev. Rom. Agric. Vitic. Arb.*, 1958, **14**, 55, 63. (18) E. NÈGRE. *C.R. Acad. Agric.*, 1954, **40**, 705. (19) T. PAUL. *Arb. Reichsgesundh.*, 1926, **57**, 94. (20) E. PEYNAUD. *Ind. Agric. Alim.*, 1953, **70**, 559.

(21) E. PEYNAUD et G. GUIMBERTEAU. *Ind. Agric. Alim.*, 1961, **78**, 131, 413. (22) B.C. RANKINE et R.D. BOND. *Austr. Jour. Appl. Sci.*, 1955, **6**, 541 ; 1960, **11**, 305. (23) H. RENTSCHLER et H. TANNER. *Mitt. Geb. Leb. Hyg.*, 1955, **46**, 200. (24) J. RIBÉREAU-GAYON et E. PEYNAUD. *Traité d'Œnologie*, Paris, 1961, T. II. (25) J. RIBÉREAU-GAYON, E. PEYNAUD, E. PORTAL, J. BONASTRE et P. SUDRAUD. *Ind. Agric. Alim.*, 1956, **73**, 85. (26) W. SALLER. *Die Qualitatverbesserung d. Weine u. Süssmoste durch Kalte*, Frankfurt. a. M., 1955.(27) E. SCAZZOLA. *Ann. Fals. Fraudes*, 1956, **49**, 159. (28) C. SCHREFFLER. *Amer. Soc. Enol. Proceed.*, 1952, **3**, 211. (29) E. SKOFIS. *Amer. Soc. Enol. Proceed.*, 1953, **4**, 69. (30) F.P. UNDERHILL, F.I. PETERMAN et A.G. KRAUSE. *Jour. Pharmac.*, 1931, **43**, 351.

(31) L. USSEGLIO TOMASSET. *Atti. Acc. Ital. Vite Vino*, 1954. **6**, 335 ; *Riv. Vitic. Enol.*, 1957, **10**, 1.

Résumé

La stabilisation des vins vis-à-vis des précipitation salines est devenue un problème de notable importance, par la nécessité croissante de disposer rapidement de vins jeunes du type courant, suffisamment stables pour être distribués en bouteilles.

Après un résumé des connaissances actuelles sur les sels peu solubles présents dans les vins et sur les facteurs qui en conditionnent la cristallisation, ainsi que sur la possibilité de prévoir l'importance de ces phénomènes, les moyens dont dispose la technique œnologique pour éviter ces causes de troubles sont examinés.

Traitements par le froid. Ces procédés sont les plus coûteux, mais ce sont naturellement les plus intéressants par l'amélioration générale qui en résulte pour les caractères des vins. De l'examen des procédés actuels de réalisation de ces traitements, on doit conclure qu'il manque à cet égard une expérimentation suffisante, de sorte que le traitement est très souvent réalisé dans les conditions empiriques et économiquement peu convenables.

Elimination des ions responsables des précipitations salines, au moyen des résines d'échange ionique. Ce sont des traitements réalisés en diverses conditions et avec divers types d'échangeurs, dont le meilleur est sans doute celui de l'échange sodique, qui garantissent la stabilité saline avec de faibles modifications de la constitution originale du vin. Ces traitements subissent toutefois différentes restrictions à cause des changements de goût qui peuvent en résulter.

Inhibiteurs de la cristallisation. Beaucoup de constituants des vins et beaucoup de produits couramment utilisés en œnologie montrent une action retardatrice sur la cristallisation des tartrates. Des données quantitatives du phénomène sont présentées, en considérant en particulier l'effet des lactides des divers oxyacides sur les différents sels peu solubles présents dans les vins. Des indications détaillées sont fournies sur la constitution, le dosage et le comportement en solution du lactide tartrique. Pour celui-ci et pour les autres produits ayant à divers degrés une efficacité anticristallisante, ont été examinées les modifications produites sur les caractères physiques des solutions.

On doit envisager avec ces inhibiteurs de la cristallisation, à condition qu'ils remplissent les conditions d'hygiène et de prix de revient, des moyens de résoudre dans la majorité des cas les problèmes de prévention des précipitations salines.

PREVENTION OF THE TARTRATE CRYSTALLIZATION

C. CANTARELLI

Summary

The stabilization o wines against the deposition of crystalline salts is an important problem in modern wine technology, as a consequence of the growing demand for young wines sufficiently stable to be bottled.

After a short exposition of the actual knowledge about salts of poor solubility in the wines and of the conditions controlling their deposition, the means of prevention of these causes of turbidity are examined.

Refrigeration, which is a relatively expensive procedure, gives best results for general finishing of young wines. So far however, the theoretical principles which regulate this process have not been clearly established, so, by this fact, the conditions of its application are quite empirical and therefore not always as economical as possible.

The elimination of the ions responsible for crystal deposition by means of ion-exchange resins can be accomplished in many different ways. The best way seems to be the sodium cycle, which can assure a good stabilization without a too evident change of the natural characters of the wine. This treatment must be applied, in every case, with care.

The use of inhibitors of crystallization seems to be very interesting if these products comply with sanitary requisites and are sufficiently cheap. Many components of the wines and several products of current enological use exhibit a retarding activity toward tartrate crystallization. Quantitative figures of this fact are presented, with a detailed examination of the activity of the lactides of the hydroxyacids of the wines for the inhibition of crystallization of many salts of organic acids.

For many inhibitors of crystallization, the modifications induced in the physical characteristics of the solutions have been examined. For the so-called « meta-tartaric acid » much detailed information about its constitution, determination and stability are presented.

VORBEUGUNG GEGEN WEINSTEINAUSSCHEIDUNG

C. CANTARELLI

ZUSAMMENFASSUNG

Die Verhinderung der Kristalltrübungen im Wein ist in Anbetracht der immer grösser werdenden Notwendigkeit, junge Konsumweine frühzeitig in Flaschen abfüllen zu müssen, ein wichtiges Problem geworden. Nach einem kurzen Überblick über die schwerlöslichen Salze im Wein und die Faktoren, welche eine Kristallausscheidung verursachen, werden jene Möglichkeiten erörtert, die nach dem heutigen Stand der Technik zur Verhinderung derartiger Ausscheidungen angewendet werden können.

Kälteverfahren. Dieses Verfahren ist sehr kostspielig, jedoch sind die Resultate zweifellos die besten, da die Eigenschaften des Weines verbessert werden. Für dieses Verfahren fehlen noch weitgehend wissenschaftliche Grundlagen, so das es trotz seiner weitgehenden Verbreitung oft unter sehr unwirtschaftlichen und empirischen Bedingungen angewendet wird.

Beseitigung der störenden Jonen durch *Jonenaustauscher.* Dieses Verfahren kann man auf mehrere Arten und mit verschiedenen Typen von Jonenaustauschern ausführen. Das beste Verfahren scheint zweifellos der Austausch des Kaliums gegen Natriums zu sein. Diese Methode garantiert die Beständigkeit des Weines ohne grössere Veränderungen seiner natürlichen Zusammensetzung. Jedoch ist dieses Verfahren oft der Kritik ausgesetzt, da es den Geschmack der Weine verändern kann.

Kristallisationsverhindernde Stoffe. Einige Bestandteile der Weine und viele in der Kellerwirtschaft angewendete Hilfmittel wirken auf die Kristallisation des Weinsteins verzögernd. Für einige Substanzen wird eine quantitative Prüfung über ihre Schutzwirkung angegeben. Im besonderen wird über die Wirkung von Laktiden einiger Oxysäuren auf die Kristallisation der schwerlöslichen Salze im Wein berichtet. Die Eigenschaften der Metaweinsäure und ihre Bestimmung werden im Detail beschrieben. Ausserdem wird noch über Veränderungen der physikalischen Eigenschaften von Lösungen berichtet, die von Metaweinsäure und anderen kristallisationsverhindernden Stoffen verursacht wird. Wenn diese Innibitoren der Kristallausscheidung hygienisch einwandfrei und im Preise günstig sind, kann man das Problem der Weinsteinausscheidung in den meisten Fällen lösen.

PREVENZIONE DELLE PRECIPITAZIONI SALINE

C. CANTARELLI

RIASSUNTO

La stabilizzazione dei vini nei confronti delle precipitazioni saline é divenuto un problema di notevole importanza, per la crescente necessità di disporre rapidamente di vini giovani di tipo corrente sufficientemente stabili per essere distribuiti imbottigliati.

Dopo aver riassunto le attuali conoscenze sui sali poco solubili presenti nei vini e sui fattori che ne condizionano la cristallizzazione, come pure sulle possibilità di calcolare preventivamente l'entità di questi fenomeni, sono esaminati i mezzi di cui oggi dispone la tecnica enologica per prevenire queste cause d'intorbidamento.

Trattamenti a fredo : sono questi i sistemi su cui gravano i maggiori oneri, ma i cui risultati sono senz'altro i più positivi per il generale miglioramento che ne deriva per le caratteristiche dei vini. Esaminate le procedure attuali per la realizzazione di questi trattamenti, si deve concludere che manca a questo riguardo una sufficiente sperimentazione per cui il trattamento viene molto spesso realizzato in condizioni empiriche ed economicamente poco convenienti.

Eliminazione degli ioni responsabili delle precipitazioni saline, a mezzo delle resine a scambio ionico. Sono trattamenti realizzati in diverse condizioni e con vari tipi di scambiatori, dei quali il migliore é senza dubbio quello per scambio sodico, che garantisce la stabilità salina con modeste modificazioni della costituzione originale del vino. Su questi trattamenti gravano tuttavia diverse remore per i cambiamenti di gusto che ne possono derivare.

Inibitori della cristallizzazione : molti costituenti dei vini e molti prodotti correntemente usati in enologia mostrano un'azione di ritardo sulla cristallizzazione dei tartrati. Vengono presentati dei dati quantitativi del fenomeno, considerando in modo particolare i lattidi di vari ossiacidi nei loro effetti su diversi sali poco solubili presenti nei vini.

Si forniscono delle indicazioni dettagliate sulla costituzione, sul dosaggio e sul comportamento in soluzione del lattide tartarico. Per questo e per altri prodotti con vario grado di efficacia anticristallizzante sono state esaminate le modificazioni da essi indotte sui caraterri fisici delle soluzioni. E' da ritenere che qualora gli, inibitori della cristallizzazione avessero requisiti igienici ed economici rispondenti, essi potrebbero senza altro soppiantare nella gran parte dei casi gli altri mezzi di prevenzione delle precipitazioni saline.

PREVENCION DE LAS PRECIPITACIONES TARTARICAS

C. CANTARELLI

RESUMEN

La estabilizacion de los vinos respecto de las precipitaciones salinas ha venido a ser un problema de notable importancia, por la creciente necesidad de disponer rapidamente de vinos jovenes suficientemente estables para ser distribuidos embotellados.

Despues de haber resumido los actuales conocimientos sobre las sales poco solubles presentes en los vinos y a cerca de los factores que condicionan la cristalizacion de ellas como tambien a cerca de las posibilidades de calcular preventivamente la importancia de esto fenomenos se examinan los medios de los que hoy dispone la tecnica enologica para evitar estas causas de alteracion.

Tratamientos por frio : Estos procedimientos son los mas caros pero cuyos resultados son sin duda los mas positivos por el general mejoramiento que deriva de ellos, para las caracteristicas de los vinos. Examinados los procedimientos actuales para la realizacion de estos tratamientos, hay que concluir que falta a este respecto una suficiente esperimentacion por lo cual el tratamiento es efectuado muy a menudo en condiciones empiricas y economicamente poco convenientes.

Eliminacion de los iones responsables de las precipitaciones salinas : Por medio de las resinas de cambio ionico. Estos son tratamientos efectuados en diferentes condiciones y con variados tipos de resinas ; el mejor es sin duda el cambio sodico, que garantiza la estabilidad salina con ligeras modificaciones de la constitucion original del vino. Estos tratamientos tienen sin embargo varias restricciones por los cambios del gusto que pueden derivan.

Inibidores de la cristalizacion : Muchos constituyentes de los vinos y muchos productos corrientemente usados en enologia muestran una accion de dilacion cerca de la cristalizacion de los tartaros.

Se presenta datos cuantitativos del fenomeno, considerando particularmente las lactidas de varios oxiacidos y en especial sobre la constitucion, acerca de la dosis, y acerca de la conducta en solucion de la lactida tartarica. Para este y para otros productos con vario grado de eficacia anticristalizante, han sido examinadas las modificaciones producidas sobre los caracteres fisicos de las soluciones. Hay que considerar que, cuando los inibidores de la cristalizacion cumplen los requisitos higienicos y economicos correspondientes pueden reemplazar en la mayor parte de los casos los otros medios de prevencion de las precipitaciones salinas.

INTERVENTION DE P. PECHEUR

Laboratoires S.A.F., Paris (France)

Traitement des vins par échangeurs d'ions

Depuis plus de quinze ans que n'a-t-on entendu sur l'échangeur d'ions appliqué à l'œnologie : « on peut tout faire, les vins piqués sont dépiqués, les résines utilisées sont cancérigènes, etc. » et cependant les travaux entrepris ont démontré que les résines n'étaient pas cancérigènes, puisqu'elles ont été autorisées pour les eaux alimentaires en avril 1961, et pour la fabrication des sucres « le traitement n'étant pas susceptible de modifier la composition du produit fini ». Les travaux effectués depuis 1948 ont montré que les vins piqués ne pouvaient être dépiqués et que les mauvais vins ne pouvaient devenir bons.

Alors que reste-t-il en 1963 ? La vérité s'est finalement fait jour et le bilan des travaux est plus qu'encourageant. L'échangeur d'ions permet de traiter un vin pour éviter les dépôts tartriques et pour éliminer les casses métalliques. Ce n'est déjà pas mal, quand on pense que pour obtenir ces résultats la science œnologique a dû mettre en branle le froid, l'acide métatartrique, le ferrocyanure de potassium, le phytate de calcium, la gomme arabique et que chacun de ces produits, s'il présente quelques avantages, amène aussi bien des inconvénients ou des résultats incomplets. Faut-il rappeler l'indice d'estérification de l'acide métatartrique, les dépôts calciques après le froid, l'excès de phytate dans les vins, et je ne parlerai pas des polémiques soulevées par le ferrocyanure et des difficultés rencontrées pour son utilisation, épée de Damoclès toujours suspendue au-dessus des œnologues chargés d'exécuter le traitement.

Pour les échangeurs d'ions le processus est beaucoup plus simple. Après les différents travaux que nous avons effectués sur les résines : recherche de l'insolubilité des macro-molécules dont la polymérisation est consécutive à une condensation aldéhydique ou cétonique ; recherche sur l'insolubilité des macro-molécules dont la polymérisation se fait sans intervention préalable d'une condensation aldéhydique, cétonique ou autre, mais dont la constitution moléculaire est due à des liaisons carbones particulièrement stables à l'hydrolyse, il a été démontré que finalement les résines ne cèdent absolument rien après un ou deux lavages.

Les études ont également porté : sur les gonflements ; solubilité du divinylbenzène dans différents solvants organiques ; sélectivité des résines due aux variations des quantités du divinylbenzène et à l'introduction de différents groupes, capacité des résines, c'est-à-dire quantité d'anions ou de cations que peut fixer une unité de poids de l'échangeur ; sur les régénérations : régénérations acide, saline, mixte, etc. avec comparaison de leurs avantages et de leurs inconvénients, des modifications possibles et de la stabilité des résultats au cours du passage dans les vins traités.

On peut dire actuellement qu'un vin passé sur les échangeurs d'ions ne subit que de très petites modifications qui ne contreviennent en rien à l'esprit de la loi française et du Code du vin. La

législation permet notamment les corrections sur les moûts (acidification, désacidification, sucrage, etc.), tandis que sur les vins faits ces opérations sont interdites à juste titre. Elles risqueraient en effet d'amener des modifications qui pourraient être trop marquées, dans le bon ou le mauvais sens. Or le traitement par échangeur de cations ne modifie pas cette acidité. Le pH ne varie pas ; il reste constant pendant la durée du traitement. Les seules modifications sont la diminution des métaux gênants : l'ion potassium diminue de 35 %, le calcium de 50 %, le fer de 50 % et le cuivre disparaît presque complètement. Ces diminutions assurent au vin une tenue correcte. Après passage sur l'échangeur les cations sont remplacés en partie par du sodium en quantité toujours inférieure à la masse des métaux disparus. C'est donc cette quantité de sodium échangé qui constitue la seule addition du procédé. Or une quantité d'ions sodium est autorisée dans les vins depuis longtemps dans une certaine limite. Ce n'est donc pas une nouveauté, et nous pourrions faire nôtre cette opinion de M. Ribéreau-Gayon : « En définitive il nous apparaît que l'utilisation des échangeurs de cations qui permettent seulement de modifier le comportement des éléments minéraux, sans modifier la teneur totale ni la composition générale du vin, notamment le pH, sans qu'à aucun moment le vin ne perde son caractère de vin, rentre dans le cadre des traitements d'une saine œnologie».

INTERVENTION DE P.F. CHENARD

Ingénieur Chimiste E.N.S.C.B., Bordeaux (France)

Règles d'utilisation de l'acide métatartrique

L'acide métatartrique est autorisé en France depuis 1956 pour la stabilisation des vins contre les dépôts tartriques. De nombreuses améliorations ont depuis cette date été apportées en vue d'une plus grande efficacité, tant en ce qui concerne la qualité intrinsèque du produit, que le moment auquel il y a lieu de l'ajouter par rapport aux autres opérations de traitement.

Des travaux récemment publiés (PEYNAUD et GUIMBERTEAU, CANTARELLI), ainsi que nos observations sur le sujet, nous permettent de dégager une règle générale d'emploi. Nous dirons tout d'abord quelques mots pour rappeler ces principes généraux d'utilisation. Puis nous décrirons les exceptions à cette règle que nous avons pu observer, ce qui constitue la partie originale de ce court exposé. Ainsi la connaissance des dérogations à observer permettra, nous l'espérons, à l'utilisateur de tirer un meilleur parti des produits mis à sa disposition.

Règles générales d'utilisation. — Elles nous amènent à considérer tout d'abord : le choix d'un produit, puis le moment le plus opportun pour son addition au vin. En ce qui concerne l'efficacité des différents acides métatartriques il a été établi que cette efficacité était fonction de leur indice d'estérification. Plus l'indice d'estérification est élevé, c'est-à-dire plus le produit est polymérisé, plus il a un pouvoir inhibiteur sur les tartres.

On appréciera d'autant mieux cette différence de valeur en constatant que si les indices d'estérification des produits présentés à l'utilisateur varient de 33 à 41, leur efficacité est pour les termes extrêmes dans le rapport de 1 à 4 au moins. Il faut quatre fois plus d'un produit à 33 % que d'un acide métatartrique à 40 % pour obtenir une inhibition comparable.

Après ces quelques considérations sur le choix d'un produit il reste donc à nous pencher sur la façon dont nous devons l'utiliser et tout particulièrement sur le moment de l'emploi.

Des expériences ont prouvé que d'une façon générale les produits œnologiques de clarification ajoutés après l'acide métatartrique diminuaient l'efficacité de celui-ci. Parmi les plus nuisibles citons les charbons activés et la bentonite. Heureusement le filtrage, même avec le système à alluvionnage continu, même avec des doses considérables de kieselgur n'a pas d'effet destructeur.

Du rappel des différentes données dont il vient d'être question, il se déduit une directive d'utilisation, qui peut être résumée sous la formule suivante : Employer l'acide métatartrique le plus polymérisé possible (sans dépasser 40-41 %) et l'ajouter après tous les autres produits de traitement et clarification. Terminer néanmoins par un filtrage qui élimine sans inconvénient la légère turbidité occasionnée par les produits ayant un indice supérieur à 40.

Dérogations. — A cette règle générale d'emploi nous avons été amenés à faire deux dérogations. La première concerne les vins qui contiennent des doses instables de fer. La deuxième a trait à l'addition de l'acide métatartrique au moment des froids intenses.

1° Certains vins contiennent des doses de fer qui les rendent cassants. Nous pensons particulièrement à beaucoup de vins rouges ordinaires qui n'ont pas eu le temps de faire leur casse ferrique, et qui ne sont pas passibles (du fait de la réglementation) du ferrocyanure de potassium. L'acide métatartrique lorsqu'il a un indice supérieur à 38 % sensibilise et accentue la casse ferrique.

2° Enfin l'hiver dernier d'une rigueur sans précédent nous a permis de constater des phénomènes que nous n'avions pas observés les hivers précédents. Lorsque la masse d'un vin descend à une température au-dessous de 5° C, l'addition d'un acide métatartrique très polymérisé détermine un trouble. Le trouble s'apparente à première vue à celui déterminé par une casse ferrique. C'est un trouble qui disparaît par réchauffement et reparaît ultérieurement si entre temps l'élévation de température n'a pas été suffisante pour déclencher une légère hydrolyse. Bien entendu cette turbidité ne se concrétise jamais sous la forme d'un dépôt, puisqu'elle disparaîtra tôt ou tard. Mais il y a là un inconvénient auquel il a fallu trouver des remèdes. Dans ces circonstances hivernales il y a donc lieu d'ajouter l'acide métatartrique après tous les autres produits de traitement mais avant le collage terminal.

Nous voudrions également donner quelques directives sur le choix du clarifiant à utiliser. Nous avons tant au laboratoire que dans la pratique, obtenu pleine satisfaction avec les clarifiants albuminoïdes (albumines de sang notamment), ainsi qu'au moyen du collage bleu. Par contre l'addition de gélatine non seulement n'élimine pas le trouble mais encore en augmente l'intensité.

Nous espérons que les modestes observations que nous venons de relater auront pu apporter une contribution en vue de la meilleure présentation possible de nos vins.

CLARIFICATION ET STABILISATION DES VINS DE CHAMPAGNE

P. GEOFFROY

Chef des Services Techniques du Comité Interprofessionnel du Vin de Champagne, Epernay (France)

Les problèmes soulevés par la clarification et la stabilisation des vins de Champagne sont sans doute dans leurs grands principes ceux qui se posent à d'autres vins blancs ; il est certain cependant que les conditions naturelles de production et les méthodes de vinification qui en découlent, confèrent à chaque région une physionomie particulière. L'importance respective des facteurs en cause peut s'en trouver modifiée.

Les solutions, quoique générales, doivent alors être adaptées aux circonstances.

C'est pourquoi nous traiterons du sujet en le rattachant constamment à la technologie champenoise. Celle-ci déterminera l'ordre de développement. Nous éviterons par la même occasion de devoir séparer radicalement la clarification de la stabilisation, d'autant que cette dernière se propose souvent le maintien durable de la limpidité.

La vocation des vins de Champagne les appelant à être des mousseux stables et limpides, nous devons déjà examiner de quelle façon cet état peut être préparé au stade de vin tranquille.

Stade du vin tranquille

Stabilisation vis-à-vis des casses métalliques. — Pendant le pressurage, le contact métallique se limite à l'utilisation momentanée de bêches et autres instruments analogues servant à certains remaniements du marc, mais vu la brièveté de ces opérations, le risque peut être tenu pour très faible. L'absence complète de foulage, commandée par les nécessités de la fragmentation des moûts, supprime une cause possible d'enrichissement métallique. Les diverses souillures des raisins, et notamment les résidus antiparasitaires, se rassemblent principalement dans les premières fractions de l'écoulement dont l'effet est surtout de laver les pellicules ; des dosages précis nous ont montré que les 200 premiers litres de moût contiennent deux à trois fois plus de cuivre que les volumes ultérieurs. Il est évident, dans ces conditions, que toute mesure tendant à séparer cette première pièce, ne peut qu'être encouragée. C'est un principe que nous avons vu adopter par certains, en vue d'une sélection qualitative plus

poussée encore que celle qui résulte de la fragmentation traditionnelle du pressurage champenois. Ultérieurement les sources possibles d'enrichissement sont relatives aux cuves métalliques, aux cuves en ciment et à leurs accessoires. La qualité des revêtements est à ce titre capitale, et seule une inspection minutieuse de l'équipement peut permettre la détection des causes d'apport étranger. Les casses métalliques sont suffisamment rares en Champagne pour qu'on puisse considérer ces mesures préventives comme largement suffisantes dans la majorité des cas. La teneur moyenne des vins en fer se situe aux environs de 5 à 6 mg par litre. Vu la faiblesse du pH, il est rare que les casses ferriques se manifestent pour des teneurs inférieures à 15 mg par litre. Elles sont traitées le plus souvent par addition d'acide citrique, et éventuellement par l'élimination du complexe tanin-fer après aération énergique. A la suite des récentes mesures concernant l'application du collage bleu, il s'est posé à la Champagne la question de savoir si le recours éventuel à ce traitement devait être envisagé.

Estimant qu'il convenait à tout prix d'affirmer la valeur irremplaçable des méthodes de prévention, elle a délibérément renoncé au bénéfice d'un procédé dont les aspects techniques sont par ailleurs souvent discutés.

Sans méconnaître l'efficacité de cette pratique et tout en admettant que les risques qu'elle comporte sont sans doute insignifiants sous réserve d'un contrôle rigoureux, les instances champenoises entendaient principalement écarter une solution de facilité dont les conséquences à long terme ne pouvaient qu'être préjudiciables à cette région.

Stabilisation vis-à-vis de l'oxydation. — La tenue ultérieure des vins dépend beaucoup de l'état sanitaire des raisins.

La pourriture grise est un problème qui a de tout temps préoccupé cette région. Elle exerce ses néfastes effets tant par les incidences organoleptiques que par la sensibilisation à la casse oxydasique qu'elle détermine dans les vins. Ces conséquences justifient amplement les pratiques de triage et d'épluchage auxquelles beaucoup restent encore fidèlement attachés. Il n'empêche que les frais importants inhérents à ces opérations amènent à envisager des méthodes technologiques susceptibles un jour de les remplacer.

Il en est ainsi notamment de la clarification dynamique des moûts pour lesquels un simple débourbage peut ne pas être jugé suffisant. La filtration des moûts fraîchement pressurés conduit à une limpidité remarquable, mais se heurte à un certain nombre de difficultés, dont la principale tient au pouvoir hautement colmatant de ces jus riches en colloïdes. Faute d'un débourbage prolongé préalable, le débit s'abaisse très rapidement à un niveau inacceptable. Des additions d'enzymes pectolytiques ont conduit à des résultats encourageants, mais cette utilisation ne peut actuellement dépasser le stade de l'expérience. Nos essais de centrifugation ont montré qu'il n'était pas possible d'obtenir une limpidité aussi poussée qu'avec la filtration ; la présence des colloïdes maintient une opalescence caractéristique. Sur le plan pratique, on peut considérer que la centrifugation des moûts conduit, au point de vue de l'épuration, à des résultats très voisins de ceux que l'on obtient par un excellent débourbage, avec cette différence que cet objectif est atteint environ dix fois plus vite.

Mais quel que soit l'intérêt de ces procédés tendant à une clarification poussée, ils ne sauraient évidemment retrancher du milieu les fractions solubles que la pourriture y aurait abandonnées. Il est peu probable dans ces conditions que ces méthodes puissent exercer tout à fait les mêmes effets que ceux qui découlent d'un excellent

épluchage. Aussi bien cette pratique, née d'une tradition fort ancienne, conserve-t-elle une valeur exemplaire.

L'anhydride sulfureux ne peut être employé qu'avec beaucoup de modération. Il est indispensable en effet qu'au moment du tirage, les vins soient suffisamment pauvres en acide sulfureux pour qu'en aucun cas la prise de mousse ne puisse être gênée. On estime qu'à ce stade il est prudent de ne pas dépasser 10 mg d'acide sulfureux par litre. Cette précaution vise d'ailleurs également à éviter la fixation de la couleur ainsi que des goûts de réduction. Il en résulte qu'en moyenne le sulfitage s'élève à 5 ou 6 g par hl, celui-ci étant effectué dès le pressurage. Bien que ces doses soient relativement faibles, elles tamponnent suffisamment les effets de l'oxydation pour qu'il ne soit pas nécessaire, sauf exception, d'en rajouter ultérieurement.

Stabilisation tartrique et biologique. — La première est surtout confiée aux froids hivernaux. Dès le premier soutirage, les celliers sont exposés aux basses températures de l'extérieur, à moins que pour des raisons particulières on désire accroître les chances d'une fermentation malolactique. Dans ce cas, le soutirage est différé, en même temps que l'on maintient une température favorable au développement des ferments malolactiques. Mais il faut bien reconnaître que l'évolution malolactique est encore soumise à de nombreuses incertitudes, aggravées en Champagne par le fait que les cuvées ont des pH rarement supérieurs à 2,9.

Si donc la fermentation malolactique ne se déclenche pas dans des délais raisonnables malgré l'application de conditions réputées favorables, la recherche d'une stabilisation tartrique suffisante conduit à abandonner provisoirement l'espoir d'une désacidification biologique. Nous touchons là à l'un des points les plus délicats de notre vinification. L'idéal serait que la fermentation malolactique suive de très près la fermentation alcoolique, ce qui permettrait aux vins de se stabiliser correctement grâce aux froids de l'hiver, et d'être ainsi parfaitement préparés à la champagnisation. Il arrive que la fermentation malolactique se déclenche au printemps à la suite du réchauffement général. Cette circonstance est diversement appréciée, car si elle aboutit finalement à assouplir les vins, elle risque par contre de retarder sensiblement les opérations de tirage. La fermentation malolactique est loin de rallier en Champagne tous les suffrages.

Beaucoup l'accusent de ternir la finesse des vins, à cause de la saveur lactique qui persiste assez longtemps ; on lui reproche aussi de maintenir dans les vins un état de trouble difficilement justiciable des moyens de clarification classiques tels que le collage. Cela est d'autant plus vrai que les récipients sont de capacité plus importante, et que l'évolution malolactique s'est faite tardivement, à une époque où l'on ne peut plus compter sur les froids comme auxiliaires de clarification. Il est incontestable aussi que tous ces inconvénients sont davantage ressentis par ceux qui, faute de posséder un équipement approprié, sont dans l'impossibilité d'y faire face efficacement et rapidement. Le développement de la filtration en Champagne résulte en partie de cette situation. Mais il est aussi dans une large mesure la conséquence d'une évolution dans le type de récipients adoptés pour la fermentation. Dans la vinification en pièces, la clarification est en général facile à obtenir, à la fois parce qu'elles se refroidissent vite et qu'elles sont moins sujettes à la fermentation malolactique.

Les vins s'y dépouillent donc déjà correctement d'une façon spontanée, et le collage ultérieur parfait cette limpidité. Il n'en est plus de même dans les cuves de grande capacité dont les fins de fermentation sont fréquemment plus longues, qui se laissent difficilement pénétrer par les froids extérieurs, et dans lesquelles la fermentation malolactique s'installe plus aisément. Dans ces récipients la clarification

par collage est plus discutable, la zone de limpidité n'atteignant qu'avec peine les couches les plus profondes du vin. Il est vrai que les installations de climatisation et de réfrigération répondent efficacement à ces difficultés. Non seulement elles offrent des moyens techniques puissants et durables, mais elles affranchissent aussi l'utilisateur d'une dépendance étroite aux conditions naturelles de l'extérieur. Elles laissent au vinificateur le choix raisonné de son intervention, au moment jugé le plus opportun. Depuis quelques années déjà, certaines maisons de Champagne se sont orientées vers de tels équipements dont elles tirent de multiples avantages. Ces solutions sont cependant loin d'être généralisées.

Bien que ses résultats soient variables, le collage est encore très largement pratiqué pendant la saison froide. Cette opération succède aux assemblages et aux coupages qui ont pour objet d'associer les vins de crus différents à une certaine proportion de vins de réserve plus anciens. Comme ces mélanges peuvent aboutir à certaines précipitations dues à des différences de constitution, le collage effectué postérieurement se propose donc de stabiliser et de clarifier les projets définitifs de cuvées destinées à la champagnisation.

Quel que puisse être l'intérêt technologique d'une bonne filtration, il serait injuste de considérer le collage comme une pratique désuète et dépassée. Il exerce incontestablement une action de stabilisation physico-chimique à laquelle la filtration ne peut que difficilement prétendre ; grâce aux réactions mutuelles de coagulation, il recule les risques de troubles colloïdaux et peut dar s certains cas limites abaisser suffisamment la teneur en fer et en cuivre pour empêcher les casses métalliques.

En Champagne, la filtration s'effectue le plus souvent sur plaques, notamment dans les petites exploitations. Quand il s'agit cependant de filtrer des volumes importants à une époque où les vins étant chargés, le colmatage intervient rapidement, il est fréquent de recourir à la filtration sur kieselgur. Cette dernière ne peut aboutir au même brillant, mais réalise cependant lorsqu'elle est bien conduite, une limpidité très compatible avec les exigences du tirage ultérieur.

Les plaques assurent dans leur plus petite porosité une finition irréprochable. C'est de cette manière qu'il est conseillé de filtrer les vins destinés à être commercialisés « nature », c'est-à-dire comme vins tranquilles. Tout au plus la filtration entraîne-t-elle parfois la précipitation ultérieure de paillettes tartriques, par suite de l'élimination de certains colloïdes protecteurs.

La stabilisation des vins nature est assurément une entreprise délicate car pour leur conserver leur fruité et leur fraîcheur on est fréquemment amené à les livrer jeunes. Ils sont de ce fait exposés aux inconvénients des précipitations tartriques, ainsi qu'aux reformations biologiques du type levures ou ferments malolactiques, ces dernières étant d'autant plus faciles que ces vins sont exempts d'une pression de gaz carbonique.

Le risque de gravelle tartrique est reculé depuis la mise en évidence des propriétés spécifiques de l'acide métatartrique auquel on recourt éventuellement comme auxiliaire d'une stabilisation incomplètement obtenue par les froids.

La nécessité d'éviter les reformations exige évidemment la mise en œuvre de moyens propres à assurer une inertie biologique aussi complète que possible.

La première précaution consiste à réserver à cette destination les vins n'ayant qu'un minimum de sucre restant ; mais cette mesure n'empêche pas la possibilité d'une évolution malolactique en bouteille dans le cas fréquent, où celle-ci ne s'est pas produite en cercles dans les délais voulus.

L'acide sorbique résout très imparfaitement le problème, puisqu'il est pratiquement inefficace vis-à-vis des ferments malolactiques. D'ailleurs quelques observations, qui demandent à être confirmées, nous amènent à douter de son indifférence absolue à l'égard des caractères organoleptiques des vins de Champagne. Quant à l'anhydride sulfureux, il est exclu d'envisager son emploi aux concentrations qui se révéleraient définitivement stabilisantes. Les vins de cette région, vu leur faible pH, sont en effet trop sensibles au goût d'acide sulfureux pour que l'on puisse se reposer entièrement sur cet antiseptique.

La filtration serrée avant la mise en bouteilles est ici la solution de choix.

Quelques essais de filtration stérilisante nous permettent d'attribuer à cette technique un caractère de sécurité absolue. Mais il ne suffit pas évidemment d'utiliser des plaques stérilisantes pour prétendre réaliser une filtration stérile. Celle-ci implique l'aseptisation totale de tout le matériel employé dans le cycle opératoire, elle suppose aussi de la part des exécutants une formation professionnelle irréprochable. Il en résulte que cette somme d'exigences est encore difficilement accessible à la majorité. On ne doit pas pour autant sous-estimer les effets de la filtration habituelle, qui lorsqu'elle est exécutée avec le maximum de soins conduit presque toujours à de bons résultats, bien que n'étant pas stérilisante au sens exact du terme.

Stade du vin champagnisé

Nous devons maintenant envisager le problème au stade de vin champagnisé, la prise de mousse étant la destination fondamentale de la presque totalité des vins de cette région.

Stabilisation tartrique. — Elle doit avoir été préparée au stade de vins en cercles. Les accidents de gravelle tartrique surviennent rarement, si les vins ont été tirés au printemps, après un hiver rigoureux, et soumis avant commercialisation à un délai suffisant de vieillissement. Ils ne sont pas exclus cependant si les bouteilles ont été expédiées par une température anormalement basse ou mal entreposées à la réception. On ne peut nier l'intérêt de l'acide métatartrique dont la présence assure une protection largement suffisante, face à des conditions déterminées. On en ajoute parfois aussitôt après dégorgement par l'intermédiaire de la liqueur de dosage.

Sans qu'on puisse en préciser exactement les raisons, il arrive que cette addition provoque l'apparition d'un trouble de nature colloïdale ; il est donc nécessaire de faire des essais préalables avant de généraliser l'opération sur une cuvée.

L'addition d'acide métatartrique au moment du tirage serait à ce point de vue plus indiquée, car le louchissement éventuel serait éliminé en même temps que les autres dépôts lors du remuage, mais réalisée trop tôt cette adjonction perd une large part de son intérêt, car on prolonge alors la période pendant laquelle ce composé est susceptible de s'hydrolyser jusqu'à perdre toute efficacité au moment de l'expédition où il s'avérerait précisément utile.

Quel que soit l'intérêt de l'acide métatartrique, il serait risqué de vouloir grâce à lui négliger les effets de stabilisation naturelle due au froid ; bien plus, la protection cessant, les vins sont davantage encore exposés aux précipitations tartriques puisque l'acide métatartrique, introduit précocement, aura maintenu en solution le tartre qui normalement se serait déposé. Tout cela nous amène à penser qu'il ne faut pas attribuer à la stabilisation artificielle plus de possibilités qu'elle n'en a, et qu'en tout

état de cause elle ne saurait induire sur l'ensemble des qualités, des effets identiques à ceux qui sont obtenus par la maturation des grandes cuvées.

L'acheminement des vins vers leur équilibre naturel est une donnée essentielle puisqu'il procure par surcroît bon nombre d'autres avantages qui lui sont directement rattachés. Cela étant posé, il est parfaitement logique de recourir aux moyens issus des progrès scientifiques, dès lors qu'ils sont subordonnés à l'objectif principal.

Le remuage. — La prise de mousse, qui a pour objet de développer dans les bouteilles une pression de 5 à 6 atmosphères, a une durée variable, qui peut être estimée en moyenne à un mois environ. Elle se réalise en présence de levures dont la concentration au tirage peut être de l'ordre de 1 à 2 millions de cellules par ml. Celles-ci en se multipliant produisent en général trois générations successives, ce qui porte la densité cellulaire aux environs de 10 à 15 millions par ml au moment où cette deuxième fermentation peut être considérée comme achevée.

Il en résulte un accroissement sensible du trouble pendant la phase active, après laquelle les dépôts s'assemblent peu à peu le long d'une génératrice.

L'objectif recherché est à la fois l'épuisement complet du sucre et l'obtention de dépôts susceptibles d'être amenés sur le bouchon d'une manière progressive et parfaite pendant l'opération de remuage. C'est pourquoi les bouteilles subissent un ou plusieurs changements de place, à l'occasion desquels elles sont énergiquement secouées à la main. Cette agitation disperse les levures au sein du milieu dont elles explorent entièrement les éléments nutritifs ; parallèlement se trouve accélérée la maturation des dépôts dont la texture se sèche progressivement pour un meilleur glissement ultérieur le long des parois de la bouteille.

La clarification par remuage n'est entreprise qu'au bout d'une année au moins et plus souvent après quelques années. On doit attacher une importance considérable à ce vieillissement sur lattes. Le vin s'achemine ainsi progressivement vers un état de stabilité toujours plus complète qui recule très sensiblement les risques de reformation ultérieure. A un autre point de vue, il n'est pas douteux que le vin est alors le siège de transformations profondes qui déterminent une évolution favorable des caractères organoleptiques.

En effet, l'achèvement de la prise de mousse ne marque pas le terme des rapports qui existent entre les levures et le milieu qui les imprègne. Grâce à des phénomènes d'autolyse et à des synthèses complexes, les levures restituent au vin sous une forme souvent différente les éléments qu'elles y ont prélevés pendant la fermentation ; on peut considérer qu'à ce titre, le séjour du vin sur ses dépôts correspond à un processus d'enrichissement dont l'effet sur la qualité du produit est fondamental. Il est infiniment probable que ces faits expliquent en grande partie les différences sensibles que l'on trouve organoleptiquement entre le vin tranquille, et le même vin champagnisé ; la modification des arômes, l'apparition de valeurs plus subtiles sont les témoignages difficilement mesurables, mais nettement perceptibles de cette évolution qui est d'autant plus marquée que le temps de garde des bouteilles sur lattes a été plus long. L'abaissement notable du potentiel d'oxydo-réduction est vraisemblablement l'autre raison essentielle de ces modifications.

Le remuage des bouteilles se propose un double objectif : l'obtention d'une limpidité parfaite au dégorgement et la nécessité d'empêcher toute reformation biologique ultérieure.

L'évolution de la technique dans ce domaine repose à la fois sur la sélection de souches de levures particulières, et sur la recherche d'adjuvants de clarification plus actifs.

Les levures riches en inclusions graisseuses rendent la tâche difficile. Par leur texture grasse, elles adhèrent au verre et ne se laissent finalement entraîner qu'au prix d'ébranlements rapides et fréquemment renouvelés. Il existe au contraire des levures qui fournissent des dépôts secs, grumeleux dont le glissement sur les parois est plus aisé. Certaines levures du type agglomérant se réunissent même en une sorte de caillot qui s'isole rapidement du milieu ambiant. Le recours à des levures de cette nature offre des perspectives intéressantes, mais les essais réalisés dans ce domaine se heurtent souvent à certaines difficultés concernant la mise en suspension homogène de telles levures lors de la préparation de la cuvée de tirage. Parfois leur tendance à s'agréger est telle qu'elles se répartissent très inégalement dans le vin ; il arrive ainsi que certaines bouteilles en soient presqu'entièrement privées, d'où des irrégularités dans la prise de mousse.

La solution peut être trouvée dans la recherche de souches pour lesquelles ce caractère agglomérant n'est que moyennement accusé, ainsi que dans la mise en œuvre d'un système d'agitation suffisamment énergique pour assurer une dispersion convenable pendant la mise en bouteilles.

L'éventualité d'une fermentation malolactique en bouteille est toujours très redoutée. Non seulement elle compromet parfois le bon déroulement de la prise de mousse, mais elle conduit toujours à un remuage extrêmement difficile, compte tenu de la finesse de ces microorganismes et de leur tendance à adhérer au verre. Le temps nécessaire au pointage de tels vins dépasse toujours de beaucoup la durée normalement impartie à cette opération. Dans les cas extrêmes, il peut même arriver, suivant la nature des bactéries désacidifiantes, que le vin soit atteint de graisse. Comme à ce stade les interventions directes sur le vin sont impossibles, on tente de rompre la viscosité en imprimant aux bouteilles une agitation énergique par coups de poignet. L'expérience montre que cette façon de procéder restitue parfois au vin sa fluidité normale, mais la réussite est tout de même très aléatoire. Le plus souvent, il est indispensable d'effectuer une remise en cercle qui seule permettra la mise en œuvre des traitements appropriés. C'est dire combien les évolutions bactériennes quelles qu'elles soient, doivent être proscrites pendant la prise de mousse.

Le travail du remuage peut être accéléré grâce à certains adjuvants de clarification introduits au moment du tirage. On s'adresse soit à des produits qui réalisent un véritable collage en bouteille, c'est le cas des combinaisons tanin-ichtyocolle ou gélatine, soit à des composés comme la terre d'infusoires ou la bentonite dont le rôle est plutôt d'assurer mécaniquement un support physique aux levures. Grâce à ces auxiliaires, le remuage est moins laborieux qu'il ne l'était autrefois, mais nécessite tout de même beaucoup de compétence pour être réalisé très correctement, l'art consistant à utiliser les dépôts lourds pour entraîner les éléments plus légers.

Nos essais visent à améliorer encore les conditions de ce travail, incontestablement onéreux du fait de l'investissement en pupitres et de leur encombrement nécessitant de vastes surfaces de cave.

La qualité du remuage est appréciée par la profondeur de limpidité qui, avec les moyens le plus couramment utilisés, n'est souvent atteinte qu'au bout de deux à trois mois.

Notre expérimentation a porté notamment sur la bentonite et sur les alginates. A une dose de 5 à 10 g par hl la bentonite conduit à un vin très brillant, ce résultat étant obtenu plus rapidement qu'avec les colles habituelles. Son action semble être à la fois physico-chimique et mécanique ; par son pouvoir adsorbant, elle abaisse le taux de protéines colloïdales, tout en enrobant les particules de trouble en suspension par sa capacité de gonflement. Nous avons cependant remarqué que les Cham-

pagnes collés à la bentonite manifestaient dans certains cas une tendance à précipiter du tartre ultérieurement. Ce fait s'explique vraisemblablement par la suppression de colloïdes protecteurs dont la présence maintient le tartre en solution, à la limite de la rupture d'équilibre.

Les essais d'alginates nous ont amené à ne retenir que le type « très basse viscosité, 5 centipoises ». Les autres formulations produisent en effet des dépôts très insuffisamment tassés, défaut encore perceptible mais acceptable dans la préparation expérimentée. L'intérêt des alginates est de former un dépôt très mobile, emprisonnant comme dans un voile ténu les éléments du trouble qui de ce fait sont conduits plus rapidement sur le bouchon sans adhérer au verre. C'est la dose de 2 g par hl qui nous a fourni les meilleurs résultats ; à une concentration inférieure, l'effet d'enrobage est insuffisant ; à dose plus élevée, la proportion de fractions légères est trop importante, celles-ci résultant précisément de l'excès d'alginate. L'addition de tanin dans ce collage est plus nuisible qu'utile.

Bien qu'en général l'utilisation d'alginates se traduise par la présence de dépôts légèrement plus volumineux que dans les techniques classiques, nous pouvons donc considérer que le recours à cet adjuvant offre des perspectives dignes d'intérêt pour le remuage, qui dans nos essais a pu être mené à son terme en trois semaines pour un degré de limpidité comparable à celui qui a été obtenu avec les adjuvants conventionnels.

Dans cette même série d'essais, nous avons été en mesure d'étudier l'influence de la filtration des vins avant tirage sur les conditions du remuage postérieur. Cette action s'est révélée minime sur les vins remués en l'absence de tout adjuvant, ainsi que sur ceux qui avaient reçu de l'alginate.

Dans le premier cas, la teneur en éléments fins du dépôt est trop importante pour que la filtration préalable traduise un effet marquant ; dans le deuxième cas, il se trouve que l'action propre de l'alginate sur l'enrobage est suffisamment nette pour rendre imperceptible l'amélioration qui pourrait résulter de la filtration.

Par contre en présence des clarifiants habituels, tels que tanin-colle, le remuage s'est révélé plus facile dans les vins qui avaient été préalablement filtrés ; il a été observé notamment que les éléments fins du dépôt y étaient moins gras, et par conséquent moins adhérents au verre. Cette action est vraisemblablement imputable à l'élimination d'un certain nombre de colloïdes mucilagineux par la filtration.

Le remuage des vins en bouteilles est encore susceptible d'améliorations. Celles-ci reposent sur la mise en œuvre d'adjuvants plus efficaces encore, constituant des dépôts bien tassés et facilement entraînables, ainsi que sur la sélection de levures aux structures physiques particulièrement adaptées. C'est dans cette double voie que s'orientent actuellement nos recherches.

Stabilisation vis-à-vis de l'oxydation. — L'expulsion des dépôts se réalise par dégorgement. Ce dernier, ainsi que le débouchage ultérieur, déterminent un choc oxydatif dont l'incidence, dans l'immense majorité des cas, ne porte que sur une évolution subtile des caractères odorants du vin. Il est connu que la plénitude des sensations odorantes correspond aux très brefs instants qui suivent le débouchage de la bouteille.

Assez rapidement, celles-ci s'atténuent légèrement, ces modifications résultant à la fois du plus faible dégagement de gaz carbonique et surtout de l'oxydation de certaines valeurs organoleptiques particulièrement fragiles. Cette élévation brutale du niveau d'oxydo-réduction peut avoir des effets plus gênants. Il arrive ainsi parfois que des vins d'excellente tenue jusqu'au tirage (cet état étant confirmé par plusieurs

essais de tenue à l'air), manifestent une casse jaune accentuée après débouchage du Champagne. Tout se passe comme si l'accoutumance progressive à un faible potentiel d'oxydo-réduction consécutif au séjour prolongé du vin saturé de gaz carbonique en vase clos, conférait aux composés polyphénoliques une sensibilité accrue à l'oxygène, dès lors que l'équilibre est brutalement rompu. La dose d'acide sulfureux libre au tirage étant à peine mesurable, il est en effet difficile d'admettre que le déclenchement de la casse soit imputable à une réduction de cette teneur du fait de la prise de mousse. Ces accidents sont à la vérité assez rares, mais le fait qu'ils existent nous incite à accorder beaucoup d'importance aux états successifs du rédox dans les vins. Le traitement appliqué dans ces cas-là consiste à apporter une faible dose d'anhydride sulfureux par l'intermédiaire de la liqueur de dosage, aussitôt après le dégorgement. Le résultat est spectaculaire pour des additions pourtant minimes de l'ordre de 15 mg par litre. Les essais réalisés dans ce même but avec l'acide ascorbique ont été moins déterminants ; il fallut en général une quantité deux à trois fois plus importante pour obtenir une protection équivalente.

Exceptionnellement ce choc oxydatif peut aussi déclencher une casse ferrique ; à ce stade le seul remède consiste à ajouter de l'acide citrique au moment du dosage. La protection est en général suffisante.

L'apparition d'une casse dans les Champagnes conditionnés constitue évidemment le terme extrême des effets possibles de l'oxydation. A un moindre degré, on peut cependant chercher à retarder dans ces vins le vieillissement prématuré préjudiciable au maintien de leur fraîcheur.

Il a été entrepris à ce sujet un certain nombre d'essais comportant de nombreuses variantes relatives à des additions d'acide sulfureux, d'acide ascorbique au tirage, au dégorgement, avec divers types de bouchage. Les vins furent dégustés en commission et l'analyse des résultats ne fit apparaître que des différences minimes. Il est néanmoins ressorti que dans le cas du bouchage plastique, le vin le moins bien noté fut celui qui n'avait reçu aucune addition, alors que le mieux noté fut celui qui avait reçu 40 mg par litre d'acide ascorbique au tirage, puis une même dose de ce corps au dégorgement, associée à 20 mg d'acide sulfureux.

Dans tous les autres cas, il n'a pas été possible de conclure à une amélioration significative par rapport aux témoins, tout au moins après huit mois de dégorgement.

Il semble donc, selon ce qui précède, que l'effet réducteur se manifeste surtout lorsque par ailleurs le vin est soumis à des conditions aggravantes d'oxydation. C'est bien ce qui s'est passé avec le bouchage plastique dont la perméabilité à l'oxygène précipite les phénomènes de vieillissement.

Stabilisation biologique. — Les reformations biologiques dans les Champagnes terminés constituent le dernier type d'accidents redoutés. Dans les cas graves, elles provoquent l'apparition d'un trouble plus ou moins intense appelé « bleu ». Il peut s'agir d'une multiplication de levures ou de bactéries, consécutive à un remuage ou à un dégorgement imparfait.

Même lorsque ces opérations sont très correctement effectuées, il peut subsister dans le vin quelques levures, dont l'activité est en général inexistante lorsque les bouteilles sont restées plusieurs années sur lattes. Seul l'examen microscopique peut en révéler la présence, la limpidité du vin n'en est nullement affectée. Il en est autrement si par suite de diverses circonstances ces microorganismes se développent en présence du sucre apporté par la liqueur de dosage. On peut alors tenter une remise sur pointes destinée à rassembler une nouvelle fois les éléments du trouble sur le bouchon. La grande finesse de ces dépôts rend ce travail difficile. Il devient presque impossible lorsque la reformation est due à des bactéries malolactiques. D'ailleurs,

en admettant que les vins aient pu être parfaitement clarifiés, il est nécessaire de scumettre les bouteilles à un nouveau dégorgement dont l'effet est de réduire sensiblement la pression intérieure. Aussi ce genre d'accident entraîne-t-il l'obligation d'une remise en cercles avec toutes les conséquences pratiques et économiques qu'une telle intervention comporte.

Ces reformations sont à la vérité très rares car la champagnisation est en soi un élément de stabilisation. Le fait pour un vin d'avoir subi deux fermentations successives, d'avoir été soumis à un temps de garde souvent prolongé, d'être relativement riche en alcool tout en étant maintenu constamment sous une pression carbonique voisine de 5 atmosphères, ne le rend pas particulièrement apte à de nouvelles évolutions biologiques. Il n'en est plus de même des vins élaborés en « nature » dont nous avons vu qu'ils étaient beaucoup plus exposés à ces inconvénients. Il est parfois ajouté aux Champagnes des traces d'anhydride sulfureux par le moyen de la liqueur de dosage ; leur tenue s'en trouve ainsi renforcée notamment lorsqu'ils sont appelés à supporter des températures très élevées au cours de transports lointains. Mais à ce stade aussi l'anhydride sulfureux ne peut être employé qu'avec prudence, vu les risques toujours possibles de goûts sulfhydriques ou de mercaptans que la prise de mousse exalte considérablement, et vis-à-vis desquels il n'y a pas d'autre issue que la remise en cercles.

Conclusion

Cet exposé sur la clarification et la stabilisation des vins de Champagne ne pouvait pas être dissocié des aspects propres à cette vinification. Face aux problèmes posés, l'approche des solutions n'a peut-être rien de très spectaculaire. Mais si la référence aux méthodes naturelles paraît y être le souci dominant, on y sent aussi le besoin d'exploiter avec discernement les progrès que la science œnologique met à la portée des praticiens. Dans les régions de vins fins plus particulièrement, le devoir n'est pas seulement de maintenir la qualité, mais bien de l'élever toujours par tous les moyens possibles.

Dans une telle perspective il est indispensable de juger la valeur d'une technique nouvelle, non pas seulement en fonction de son efficacité et de sa commodité, mais surtout par rapport aux incidences qualitatives qu'elle exerce sur les vins. Ce n'est pas sans mûre réflexion que des procédés nouveaux doivent être substitués à ceux qu'une solide tradition a consacrés ; la science ne renie pas forcément la tradition, elle ne peut s'y risquer que si les nouvelles options se fondent sur la certitude que la voie désormais empruntée comporte à tous les échelons plus d'avantages que celle qui sera délaissée.

Ces prises de position sont rarement faciles ; elles impliquent de multiples expériences et autant de comparaisons, une appréciation exacte des causes et des effets, et finalement toujours beaucoup de prudence. C'est pourtant de cette manière que l'œnologie réalise pleinement sa vocation, avec toutes les ressources scientifiques dont elle dispose. Elle se met délibérément au service d'un produit qu'elle respecte et dont elle dirige l'évolution. Car un bon vin se fait rarement tout seul ; aussi riche que soit la matière, celle-ci se dégrade si elle est abandonnée à elle-même. Mais quel n'est pas son avenir lorsque rien n'est perdu dans le long cheminement de l'élaboration.

Ainsi comprise, la mission de l'œnologie, pour être moins spectaculaire, n'en est que plus féconde. Elle prolonge aussi l'image familière d'une association étroite et confiante entre l'homme et le vin.

Résumé

Les casses métalliques sont rares en Champagne par suite des nombreux soins préventifs. La teneur moyenne en fer est voisine de 5 à 6 mg par litre. Le cas échéant, le traitement à l'acide citrique et l'élimination du complexe tanin-fer après aération constituent des mesures suffisamment efficaces.

La stabilité vis-à-vis de l'oxydation est liée surtout à l'état sanitaire des raisins. L'épluchage des grappes est la solution de choix. A défaut, la centrifugation et la filtration des moûts sont des palliatifs à envisager. Les doses d'anhydride sulfureux doivent tenir compte de la nécessité de ne pas gêner la prise de mousse ultérieure.

La stabilisation tartrique est assurée principalement par les froids hivernaux. On peut noter une évolution marquée vers l'adoption d'installations climatisées. Dans la préparation des vins nature, commercialisés jeunes, il est parfois fait appel aux propriétés protectrices de l'acide métatartrique. Son utilisation dans les mousseux au stade du dégorgement peut se concevoir dans certains cas particuliers. Mais la stabilisation artificielle ne peut se substituer à celle qu'un temps de garde suffisamment prolongé assure aux grandes cuvées.

La fermentation malolactique n'est souhaitable que si elle ne prive pas les vins de leur fraîcheur. Elle doit toujours être proscrite en bouteilles pendant la prise de mousse : celle-ci peut en effet être entravée, et le remuage est alors toujours très difficile.

La limpidité des vins avant tirage en mousseux est obtenue par collage ou filtration. Les améliorations des techniques de remuage reposent sur la sélection des levures et sur l'emploi d'adjuvants efficaces. La bentonite et l'alginate à faible dose ont fourni des résultats intéressants. Le choc oxydatif consécutif au dégorgement peut être atténué par une légère addition d'acide sulfureux à la liqueur de dosage. L'action de l'acide ascorbique continue à être étudiée.

La pression de gaz carbonique et l'épuisement du milieu en éléments nutritifs sont des facteurs indéniables de stabilisation pour les champagnes. Les reformations biologiques y sont heureusement rares, car elles nécessitent presque toujours une remise en cercles.

En définitive, l'élaboration des champagnes s'inspire à la fois du souci de respecter la matière première et de bénéficier des progrès de la science œnologique. Mais les interventions doivent être constamment subordonnées à la nécessité de maintenir, et même d'accroître, la qualité des vins.

CLARIFICATION AND STABILIZATION OF CHAMPAGNE WINES

P. GEOFFROY

Summary

Metallic turbidities or casses are unusual in Champagne wines owing to the great preventive care taken. The average iron content is near 5 to 6 mg per liter. In case of need, a citric acid treatment and the elimination of the tannin-iron combination after aeration will constitute sufficient and efficient measures.

Stability as far as oxydation is concerned, is particularly linked to the sanitary conditions of the grapes. The best solution consists in sorting the bunches of grapes. Failing which, centrifugation and filtration of the musts are to be considered. The quantities of sulfur dioxide used must allow for the necessity that there not be interference with the subsequent fermentation in bottles.

The tartaric stabilization is mainly ensured by means of winter cold. A pronounced move toward the adoption of air-conditioned plants is noticed. In the preparation of natural wines, to be sold when young one sometimes has recourse to the protective properties of metatartric acid. Its use in sparkling wines at the time of the extraction of the sediment-coated cork can be conceived in some particular cases. But artificial stabilization cannot serve as a substitute for that which can be ensured to the first class « cuvées » by a sufficiently extended aging period.

The malolactic fermentation can be wished for only if it does not deprive wine of its freshness. In no case must it be permitted in bottle during the secondary fermentation or formation of the foam : this fermentation can indeed be hindered and the shaking operation for the working of the deposit down on to the cork « remuage » is always very difficult.

The limpidity of wine before bottling is obtained by fining or filtration. Improvements effected in the shaking technics are based upon the selection of yeasts and the use of efficient adjuvants. Bentonite and alginate in small quantity have produced interesting results. The « oxydative shock » due to the last manipulation for the removal of the sediments « degorgement » can be reduced with a slight addition of sulfur dioxide to the dosing liquor. The action of ascorbic acid is still under consideration.

The carbon dioxide pressure and the complete loss of nutritive elements in wine are undeniable factors of stabilization in Champagne wines. The biological deposit are fortunately rare, for they entail a putting back of the wine into the wood.

In short, the elaboration of Champagne wines derives from the desire to keep the raw material as natural as one possibly can together with the wish to profit by the advancement in enological knowledge. But any intervention must constantly aim at keeping up or even increasing the quality of wine.

KLÄRUNG UND STABILISIERUNG DER CHAMPAGNE-WEINE

P. GEOFFROY

ZUSAMMENFASSUNG

Die metallischen Trübungen sind in den Champagne-Weinen wegen der zahlreichen Vorbeugungsmassnahmen recht selten. Der Durchschnittsgehalt an Eisen beträgt etwa 5-6 mg/l. Sollten tatsächlich Trübungen eintreten, dann ist die Behandlung mit Zitronensäure und die Entfernung des Eisen-Tanninkomplexes nach vorangegangener Belüftung ausreichend.

Die Stabilität gegenüber der Oxydation ist vor allem mit dem Gesundheitszustand des Traubenmaterials verbunden. Das Auslesen der Beeren (épluchage) ist unsere Methode. Andernfalls ist das Zentrifugieren und Filtrieren der Moste nur eine teilweise wirksame Massnahme, die angewendet werden kann. Die Menge der Schwefeligen Säure muss so bemessen sein, dass sie die darauffolgende Flaschengärung nicht zu stören vermag.

Die Stabilisierung gegen Weinstein ist vor allem durch die Winterkälte gewährleistet. Man kann jedoch eine Entwicklung zur Installation von Klimaeinrichtungen feststellen. Bei der Herstellung der Natur- (Still-) Weine, die vor allen Dingen jung verkauft werden müssen, hat man sich oft der schützenden Eigenschaften der Metaweinsäure bedient. Ihre Anwendung kann bei den Schaumweinen im Stadium des Degorgierens in besonderen Fällen gebilligt werden, jedoch kann die künstliche Stabilisierung eine genügend lange Lagerzeit nicht ersetzen.

Der Säureabbau ist nur dann erwünscht, wenn er den Weinen nicht ihre Frische nimmt. Er muss unter allen Umständen während der Flaschengärung verhindert werden. Dieser kann tatsächlich gehemmt werden aber das Rütteln wird dadurch erschwert.

Die Klarheit der Weine wird vor dem Abfüllen (tirage) durch Schönungen und Filtration erreicht. Die technischen Verbesserungen des Rüttelns (remuage) beruhen auf der Auslese der Hefen unter Anwendung von wirksamen Zusatzstoffen. Bentonit und Natriumalginat haben in schwacher Dosis interessante Ergebnisse geliefert.

Der Oxydationsschock, welcher dem Degorgieren folgt, kann durch eine schwache Zugabe von Schwefeliger Säure zur Likörlösung gemildert werden. Die Wirkung der Askorbinsäure wird weiter Gegenstand von Untersuchungen bleiben.

Der Kohlensäuredruck und die Verarmung an Nährstoffen im Wein sind sichere Stabilisierungsfaktoren für die Champagner. Die biologischen Trübungen sind glücklicherweise selten und sie erforden immer eine neuerliche Fasslagerung. Abschliessend kann gesagt werden, dass die Erzeugung der Champagner von der Sorge durchdrungen ist, den Wein zu schonen und den Fortschritt der önologischen Erkenntnisse zu fördern. Die Eingriffe müssen daher immer der Notwendigkeit untergeordnet sein, die Qualität des Weines zu erhalten, und, wenn möglich, zu heben.

CLARIFICAZIONE E STABILIZZAZIONE DEI VINI DI CHAMPAGNE

P. GEOFFROY

RIASSUNTO

Le rotture metalliche sono rare in Champagne in conseguenza delle numerose cure preventive. Il tenore medio in ferro si aggira sui 5 à 6 mg per litro. All'occorenza, il trattamento all'acido citrico e l'eliminazione del complesso tannino-ferro dopo aerazione costituiscono delle misure sufficentemente efficaci.

La stabilità nei confronti dell'ossidazione è legata soprattutto allo stato di sanità delle uve. La mondatura dei grappoli è la soluzione migliore. In mancanza, la centrifugazione e la filtrazione dei mosti sono dei palliativi da prendere in considerazione. Le dosi di anidride solforosa devono tenere conto della necessità di non ostacolare la ulteriore formazione di spuma.

La stabilizzazione tartarica è assicurata principalmente dai freddi invernali. Si puó constatare una evidente evoluzione verso l'adozione di impianti climatizzati. Nella preparazione dei vini naturali, commercializzati giovani, si fa talvolta appello alle proprietà protettrici dell'acido metatartarico. La sua utilizzazione nei vini spumanti allo stadio dell'eliminazione del deposito (degorgement) è da prendasi in considerazione in alcuni casi particolari. Ma la stabilizzazione artificiale non puó sostituirsi a quella che un tempo di conservazione sufficientemente lungo assicura alle grandi « cuvées »

La fermentazione malolattica è desirabile se non priva i vini della loro freschezza. Essa deve sempre essere evitate in bottiglie durante la formazione della spuma : quest ultima puó infatti essere ostacolata e la formazione del deposito è allora sempre molto difficile.

La limpidezza dei vini, prima dell'imbottigliamento per renderli spumanti (tirage) è ottenuta per collatura o filtrazione. I miglioramenti della tecniche di eliminazione del deposito (remuage) riposano sulla selezione dei lieviti e sull'impiego di coadiuvanti efficaci. La bentonite e l'alginato in piccole dosi hanno fornito dei resultati interessanti. Il trauma ossidativo conseguente all'eliminazione del deposito puó essere attenuato da una leggera aggiunta di acido solforoso al liquido di dosamento (liqueur de dosage. L'azione dell'acido ascorbico continua ad essere studiata.

La pressione dell'anidride carbonica e l'esaurimento del mezzo in elementi nutritivi sono dei fattori innegabili di stabilizzazione per i vini champagne. I depositi biologici sono fortunatamente rari, poichè necessitano quasi sempre una rimessa in fusti.

In definitiva, l'elaborazione dei vini champagne s'ispira nello stesso tempo all'idea di rispettare la materia prima e di avvalersi dei progressi della scienza enologica. Ma gli interventi devono essere costantemente subordinati alla necessità di mantenere, ed anche di acressere la qualità dei vini.

CLARIFICACION Y ESTABILIZACION DE LOS VINOS DE CHAMPAGNE

P. GEOFFROY

RESUMEN

Las quiebras metalicas son raras en Champagne a causa de las numerosas medidas preventivas. El contenido medio de fierro es cercano a 5 o 6 mg por litro. En caso necesario, el tratamiento con acido citrico, y la eliminacion del complejo tanino-hierro despues de una aireacion son medidas suficientemente eficaces.

La estabilidad frente a la oxidacion esta ligada sobre todo al estado sanitario de la uva. El desgranado de los racimos es la solucion ideal. En su defecto, la centrifugacion y la filtracion de los mostos son paliativos que se pueden considerar. Los dosis de anhidrido sulfuroso deben tomar en cuenta la necesidad de no impedir la fermentacion en la botella.

La estabilizacion tartrica esta asegurada principalmente por los frios invernales. Se puede notar una evolucion marcada hacia la adopcion de instalaciones climatizadas. En la preparacion de los vinos al natural comercializados jovenes, en algunas ocasiones se recurre a las propiedados protectoras del acido metatartrico. Su utilizacion en los vinos espumosos en el momento del « degüello » (expulsion del deposito) puede aceptarse en algunos casos particulares. Pero la estabilizacion artificial no puede substituir a la que proporciona una conservacion suficientemente prolongada, a los grandes vinos.

La fermentacion malolactica es solo deseable cuando no priva a los vinos de su frescura. Siempre debe ser proscrita en las botellas durante el periode de fermentacion secundaria : esta puede ser detenida en efecto, y el removido es entonces mas dificil.

La limpidez de los vinos antes del embotellado se obtiene por clarification y filtracion. Las mejoras hechas a las tecnicas de « removido » en el vino se basan en la seleccion de las levaduras y en el uso de activadores efficaces. La bentonita y el alginato a pequeñas dosis hen dado resultados interesantes. El choque oxidativo consecutivo al « degüello » (expulsion del deposito) puede ser atenuado por una ligera adicion de acido sulfuroso al licor de expedicion. La accion del acido ascorbico sigue siendo estudiada.

La presion de gas carbonico y el agotamiento del medio en elementos nutritivos son factores innegables de estabilizacion para los Champagnes. La formacion de depositos biologicos es aqui rara felizmente, pues se requiere casi siempre volver a poner el vino en barrica.

En definitiva, la elaboracion de los Champagnes se inspira a la vez en la inquietud de respetar la materia prima y de beneficiar de los progresos de la ciencia enologica. Pero las intervenciones deben estar constantemente subordinadas a la necesidad de mantener, y aun de acrecentar la calidad de los vinos.

DISCUSSION

M. PEYNAUD (Bordeaux) : Pourriez-vous nous préciser si une relation a été établie entre la teneur en colloïdes et leur nature, tels qu'ils ont été étudiés par M. USSEGLIO-TOMASSET, et la finesse et la persistance de la mousse et du « cordon », très caractéristiques des vins de Champagne et qui étonnent toujours les techniciens d'autres régions ?

Réponse : L'aptitude des vins de Champagne à développer une mousse fine et persistante est très vraisemblablement liée à la présence de colloïdes de nature protéique. A titre accidentel, il arrive que certains Champagnes aient une mousse « folle », impossible à maîtriser, bien que par ailleurs la pression y soit tout à fait normale. Les conditions mêmes de la prise de mousse ne sont pas en cause. La raison tient sans aucun doute à la constitution du vin, sans qu'il nous ait été possible jusqu'ici de déterminer l'élément responsable. Les mucilages n'y sont peut-être pas étrangers.

PROBLÈMES DE LA STABILISATION DU VIN DE PORTO

M. PACHECO DE AZEVEDO

Laboratoire de Recherches de l'Institut du Vin de Porto, Porto (Portugal)

Introduction

Le Vin de Porto, « appellation d'origine » des plus anciennes et des plus renommées, appartient, dans la terminologie internationale, au groupe des « vins spéciaux ». Dans cette catégorie, il est inclus dans la dénomination « vin généreux » à cause de ses excellentes et particulières caractéristiques. C'est effectivement un vin spécial par les qualités organoleptiques et de noblesse qui le caractérisent et lui donnent la désignation, bien portugaise, de « vinho generoso » et aussi par certains aspects de sa composition et de son comportement physique et chimique, que nous chercherons à mettre en évidence.

Comme dans tous les vins de haute qualité, non seulement l'acidité totale du vin de Porto est basse, mais son pH, comme il est logique, est élevé. Les valeurs du pH sont normalement comprises entre 3,6 et 3,8, arrivant parfois à atteindre 3,9 et 4,0 (1).

Ce vin est aussi caractérisé par un potentiel d'oxydo-réduction élevé, même après un long séjour en bouteille. Almeida (2) déterminant le potentiel rédox de 44 échantillons de vins embouteillés d'années diverses, a trouvé, comme valeur minimale 230 millivolts*;il s'agissait d'un Porto embouteillé il y a 29 ans, avec un pH de 3,7. Ce même vin vieilli en fût, présentait un potentiel de 386 millivolts. Comme limite maximale, il a obtenu les valeurs 461 et 445 pour des vins ayant séjourné peu de temps en bouteilles.

Nous pensons qu'il est aussi curieux de voir ce qui se passe dans ce vin en relation avec sa richesse en matières tannoïdes. D'après Lencastre (3) les limites de ces substances varient entre 0,113 et 1,581 g par litre, valeurs qui, n'étant pas extraordinaires, sont cependant significatives.

Son pH et son potentiel d'oxydo-réduction normalement élevés, ainsi que sa naturelle richesse en matières susceptibles de former avec plus ou moins de facilité des complexes avec les cations métalliques, produisent dans le vin de Porto des conditions spéciales qui s'opposent au développement de la casse ferrique et même qui l'empêchent. Almeida, tenant compte de certaines observations faites au cours d'analyses de routine du vin de Porto depuis une dizaine d'années, a vérifié que dans ce vin n'existent pas normalement les conditions indispensables à la formation de cette

* Potentiels en relation avec l'électrode d'hydrogène.

casse (2) ; à la base de ces conditions se trouve son pH élevé, qui, comme RIBÉREAU-GAYON l'a démontré expérimentalement, se présentant usuellement au-dessus de la valeur 3,6, est peu favorable à la formation de cet accident physico-chimique.

ALMEIDA recherchant l'état du fer qu'on rencontre dans ce vin généreux, soit en bouteille (2 et 9) soit en fût, a vérifié l'inexistence des conditions convenables à la formation de la casse ferrique, en se basant sur les faits suivants :

— Le Fe^{+++} libre n'existe pratiquement pas dans les vins de Porto en bouteilles et même dans les vins en fûts sa teneur est très basse.

— Le Fe^{++} libre existe seulement dans le vin de Porto en bouteille et conservé à l'abri de l'air et, même dans ces conditions, normalement en petites quantités ;

— Le fer dans le vin de Porto, soit en bouteilles soit en fûts, se trouve dans sa presque totalité complexé à l'état ferrique.

Nous considérons aussi très intéressant pour l'étude que nous voulons présenter, l'enregistrement des teneurs en acétaldéhyde existant dans le vin de Porto. VALE TEIXEIRA (4) faisant la recherche de l'éthanal dans différentes qualités de vin, a vérifié que les teneurs en aldéhyde accompagnent au fur et à mesure l'acidité volatile et que plus haute est la qualité, plus forte est la quantité d'éthanal qu'il présente. Ces valeurs dans les vins de qualité varient entre 66 et 162 mg par litre.

Le même auteur a encore vérifié que l'évolution de l'éthanal dans le vin de Porto est lié à des phénomènes qui conditionnent son vieillissement. Nous attachons une très grande importance à ce fait ainsi qu'aux valeurs d'acétaldéhyde dosées en ce qui concerne le délicat problème du vieillissement et de la stabilisation de ce vin généreux, comme nous le préciserons plus loin.

Un autre aspect sur lequel il est aussi convenable de se pencher en ce qui concerne la composition complexe de ce vin, c'est celui de ses matières colorantes auxquelles il doit sa large gamme de colorations et de tonalités qui charment l'amateur. Ce séduisant champ d'étude de la matière colorante du vin de Porto a déjà été défriché par ALMEIDA (5 et 6). Soit dans le groupe des anthocyanosides, dont la profusion et la disposition nous donnent les jolies colorations des vins rouges, soit dans le groupe des dérivés flavoniques ou flavones, qui contribuent si fortement à la composition des tonalités jaunes des vins blancs, la matière colorante du vin de Porto constitue à cause des groupements phénoliques qu'elle contient, un précieux et compliqué facteur d'une importance fondamentale dans le problème de son vieillissement et de sa stabilisation. Qu'ils soient blancs (blanc pâle, blanc paille et blanc doré) ou rouges (pelure d'oignon et blond doré) ou qu'ils rentrent dans les zones de couleur très foncée (rubis, rouge et rouge foncé), il est vrai que le vin de Porto nous offre le plus varié et complexe matériel d'étude, d'une importance fondamentale pour le problème en question.

Le contact permanent entre ces substances de nature phénolique et l'acétaldéhyde qui existe à doses élevées dans le vin de Porto, d'accord avec ce qu'a annoncé TRILLAT (1891) et que mentionne RIBÉREAU-GAYON (7, 8), « explique peut-être la précipitation du colorant en bouteilles à l'abri de l'air, puisque la matière colorante est précipitée par de faibles quantités d'aldéhyde ». MARECA CORTÈS (16, 17, 18) est arrivé à de semblables conclusions.

Les produits de condensation qui composent normalement les dépôts du vin de Porto rouge en bouteilles, ont été déjà minutieusement étudiés par ALMEIDA (6) qui a identifié par entraînement, utilisant un courant de vapeur, la fonction aldéhy-

dique ; analysant les mêmes dépôts, il a vérifié l'existence dans la matière sèche obtenue à 100 °C (valeurs moyennes de l'analyse de six échantillons) divers cations, notamment le cation calcium (0,480 %) et les métaux fer (0,065 %) et cuivre (0,036 %).

Ces dépôts, séparés par centrifugation, ont été plusieurs fois lavés, centrifugés et désagrégés, et, ensuite, soumis à l'électrophorèse pendant quelques heures. Dans les bandes de papier ont été identifiées des traces nettes de ces trois cations (Ca, Fe, Cu), ce qui a amené ALMEIDA à émettre des réserves sur l'hypothèse que ces cations seraient engagés dans des complexes avec les colorants eux-mêmes. Aujourd'hui grâce aux travaux subséquents, il croit que l'engagement dans des complexes se vérifie avec le fer et le cuivre, si on prend en considération les propriétés que ces cations possèdent comme centres de coordination.

Le même auteur (6) analysant encore les dépôts obtenus par l'action prolongée du froid (— 9 °C) sur le vin de Porto rouge, « a rencontré une teneur en fer et cuivre pas très éloignée de celle du dépôt produit lentement et naturellement, tandis que la teneur en aldéhyde se limite à de simples traces ». Ce fait permet de fonder l'hypothèse que ces cations métalliques étaient naturellement engagés dans des complexes avec le colorant et de montrer que les dépôts résultant du traitement du vin de Porto par le froid se forment non par condensation moléculaire, mais parce que ces colorants ont dépassé la limite de la solubilité en vertu des basses températures utilisées. On démontre pratiquement ce fait en vérifiant que le dépôt formé dans le vin de Porto soumis à des basses températures pendant quelques jours est, normalement, réversible, c'est-à-dire se dissout quand le vin est porté à la température ambiante et agité.

La très petite ou inexistante quantité de bitartrates dans ces dépôts, surtout dans le vin de Porto rouge, mérite, aussi, une référence spéciale. Ce cas est justifié par la basse acidité fixe de ce vin, par son degré alcoolique élevé et aussi, du point de vue technologique, parce qu'il est mis en bouteille seulement après être resté pendant quelques années en fût, à Gaia (*) ou au Douro (**), où les hivers sont froids.

L'analyse de ces sédiments ou bien ne révèle pas de potassium ou le révèle seulement à l'état de traces. Pour des motifs semblables, on ne rencontre pas dans ces dépôts des teneurs élevées de matières protéiques.

De sorte que les trois causes les plus courantes qui, d'une façon générale, justifient la formation des dépôts dans les bouteilles de vin de Porto (microorganismes, sels d'acide tartrique et matières protéiques) constituent un sérieux problème à résoudre seulement dans les premières années de sa vie. Quand ce vin est commercialisé, l'interférence de ces causes dans le phénomène est déjà très petite.

Par conséquent, la matière colorante (antocyanosides) intéresse fondamentalement le problème de la stabilisation du vin de Porto, dans le but d'éviter les dépôts formés dans la bouteille.

Des études précédemment énoncées et réalisées à l'Institut du Vin de Porto, on peut conclure que la formation par le vieillissement des amas de matières colorantes qui composent les dépôts normaux du vin de Porto, peut s'expliquer par une condensation moléculaire et une insolubilisation.

Il est admissible que ce phénomène soit catalysé et commandé par la présence des cations métalliques — notamment le fer (fer complexe, dans sa presque totalité

---

* Entrepôt situé sur la rive gauche du Douro en face de la ville de Porto et où se trouvent légalement rassemblés les chais du vin de Porto.

** Région délimitée productrice du vin de Porto.

à l'état d'oxydation maximale) et le cuivre. Dans cette réaction interviennent aussi et dans une large mesure les aldéhydes. Les interventions diastasiques, comme l'a vérifié BERTUZZI (10 et 14) et MARQUES GOMES (19, 20, 21), et les phénomènes d'oxydo-réduction ne sont pas, sans doute, étrangers à ces réactions.

Notre attention ayant été retenue par les matières colorantes du vin de Porto comme responsables fondamentaux de la formation des dépôts dans les bouteilles, regardons maintenant ce qui se passe dans l'évolution de ce vin.

Les macro-molécules se forment par un processus lent qui dépend, fondamentalement, de l'âge et de la couleur du vin, des aérations qu'il a subies et de la teneur en cations métalliques. Par conséquent, dans un vin en cours de vieillissement, on peut admettre l'existence :

a) de particules de matière colorante dans un parfait état de solubilité ;

b) de particules de matière colorante en évolution moléculaire, c'est-à-dire, tendant à l'insolubilité ; il est possible que, dans une phase avancée de cette évolution, les molécules citées se trouvent dans un faux état de solubilité ;

c) de macro-molécules déjà formées, donc insolubilisées, déposées ou en train de l'être.

Dans le but d'obtenir la stabilisation désirée il importe donc d'empêcher les molécules, citées dans *a*), d'évoluer vers l'insolubilité ; d'éliminer les macro-molécules en formation évolutive plus ou moins avancée, citées dans *b*) et les autres déjà organisées, indiquées dans *c*).

Voyons les moyens que les techniques modernes d'œnologie peuvent nous donner à ce sujet.

Les essais préliminaires que nous avons réalisés « in vitro » et dans le cadre de la pratique, ont mis en évidence une action notable du traitement utilisant une clarification préalable du vin avec la bentonite associée aux protéines (gélatine ou albumine du sang). Dans les vins blancs et rouges peu foncés, nous avons obtenu avec cette technique des résultats très significatifs ; mais dans les vins de colorations plus foncées, elle est insuffisante.

Toutefois nous pensons que les actions enzymatiques ne peuvent pas être laissées de côté dans la stabilisation du vin de Porto ; il est possible que la clarification, ou même la réfrigération, à laquelle nous ferons référence ci-après, a besoin d'être complétée par l'action de la chaleur, et, de préférence, nous le verrons ensuite, par des hautes températures (pasteurisation-éclair).

Parmi les traitements de stabilisation déjà utilisés par le commerce du vin de Porto, la réfrigération est importante, surtout pour les vins de coloration peu foncée.

L'Institut du Vin de Porto a étudié également l'emploi des résines cationiques échangeuses d'ions. A cause des raisons notées précédemment, on n'a jamais reconnu un intérêt évident dans l'emploi de ces résines dans la stabilisation du vin de Porto. Les recherches poursuivies pendant presque huit années, ont affermi notre conviction que la substitution totale ou partielle du potassium et du calcium par le sodium conduit à une authentique altération du vin. Bien que nous considérions cet argument d'une importance fondamentale parce qu'il peut nourrir les campagnes de discrédit du vin en faveur d'autres boissons déjà très connues, nous devions, pour un meilleur éclaircissement du problème, inclure les résines dans le schéma de nos recherches.

MÉTHODES DE STABILISATION ESSAYÉES

Dans le choix du type de vin de Porto à utiliser pour les premières expériences, nous avons donné la préférence à un vin de couleur très foncée, appartenant, bien entendu, aux types considérés exportables par le commerce. Ainsi, on a choisi un vin rubis, âgé d'environ trois ans, de couleur vive et brillante, corsé et très tannique. Les expériences ont été faites sur deux lots de ce vin, à savoir :

A - Vin originel, c'est-à-dire, seulement filtré au préalable.

B - Vin préalablement clarifié avec 60 g de bentonite par hectolitre et immédiatement soumis à une autre clarification avec 10 g de gélatine par hectolitre ; ensuite, il a été filtré.

Ces expériences réalisées en juin 1962 sont indiquées dans le tableau 1.

Une fraction du vin, après le traitement suivi de filtration, a été embouteillée, l'autre fraction a été conservée en fûts, afin de suivre leur évolution dans ces deux conditions de conservation.

TABLEAU 1

	Modalités de l'essai	Désignation
Groupe A Vin originel	— Témoin	A
	— Réfrigération à — 9 °C avec un séjour de 6 ou 7 jours à cette température en cuve isotherme	A_1
	— Pasteurisation à 85 °C avec un séjour de 5 ou 6 mn à cette température	A_2
	— Pasteurisation éclair à 104 °C avec une durée d'environ 7 s à cette température	A_3
	— Réfrigération à — 9 °C (6 à 7 jours) suivie par la pasteurisation à 85 °C (5 à 6 mn)	A_4
	— Réfrigération à — 9 ° C (6 à 7 jours) suivie par la pasteurisation éclair pendant environ 7 s	A_5
	— Pasteurisation à 85 °C (5 à 6 mn) suivie de réfrigération à — 9 °C (6 à 7 jours)	A_6
	— Résine échangeuse d'ions (Zéocarb 225) régénérée avec chlorure de sodium	A_7
Groupe B Vin préalablement clarifié avec de la bentonite et de la gélatine	— Témoin	B
	— Réfrigération à — 9 °C avec un séjour de 6 ou 7 jours à cette température en cuve isotherme	B_1
	— Pasteurisation à 85 °C avec un séjour de 5 ou 6 mn à cette température	B_2
	— Pasteurisation éclair à 104 °C avec une durée d'environ 7 s à cette température	B_3
	— Réfrigération à — 9 °C (6 à 7 jours) suivie par la pasteurisation à 85 °C (5 à 6 mn)	B_4
	— Réfrigération à — 9 °C (6 à 7 jours) suivie par la pasteurisation éclair pendant environ 7 s	B_5
	— Pasteurisation à 85 °C (5 à 6 mn) suivie de réfrigération à — 9 °C (6 à 7 jours)	B_6
	— Résine échangeuse d'ions (Zéocarb 225) régénérée avec chlorure de sodium	B_7

Comportement des vins stabilisés soumis de nouveau a l'action du froid

Une série de bouteilles de chacun des essais a été soumise à des températures d'environ 0 °C pendant 6 jours ; une autre série a été soumise pendant une même période à la température de — 9 °C.

En résumé le comportement des vins a été le suivant :

A la température de 0 °C. — Dans la série *A*, seulement le témoin (*A*) et le vin traité par les résines ont créé des dépôts. Tous les autres sont restés limpides, cristallins et sans dépots ; l'essai A_2 (pasteurisé à 85 °C) a toutefois perdu un peu de son éclat. Tous les vins de la série *B* sont restés limpides, cristallins et sans dépôt, exception faite de l'essai témoin (*B*), ce qui vient nous confirmer qu'un traitement préalable du vin avec de la bentonite associée avec de la gélatine contribue beaucoup au bon résultat de la stabilisation.

A la température de — 9 °C. — Le comportement des vins a été identique, dans la série *A* comme dans la série *B*, c'est-à-dire que seulement les essais réfrigérés et, ensuite, pasteurisés (A_4, A_5, B_4 et B_5) sont restés limpides, cristallins et sans dépôts. L'essai A_1 (seulement réfrigéré) est resté stable pendant les premières 48 h, après quoi le vin est devenu opalescent et a créé un léger dépôt. Tous les autres, dans ce temps, ont donné un fort dépôt.

Le détail suivant est, cependant, digne d'être souligné : si on change l'ordre des opérations en n'importe quelle série, c'est-à-dire si on procède à la pasteurisation en premier lieu et, ensuite, à la réfrigération (essais A_6 et B_6), on constate la formation de forts dépôts, lorsque les vins sont de nouveau soumis à une température de — 9 °C.

D'ailleurs ce fait curieux est d'accord avec les expériences décrites par J. Ribéreau-Gayon (7), sur le comportement des vins lorsqu'ils sont soumis à l'action de la chaleur. Ce fait a été encore vérifié et cité par Bertuzzi (10), qui a reconnu qu'il était convenable d'utiliser la pasteurisation-éclair après la réfrigération. Ce même auteur (11), inspiré par les récentes études réalisées par l'Istituto di Zoologia de Milan ayant pour base la microscopie électronique, nous apporte des éléments précieux qui plaident en faveur des résultats de l'application de la pasteurisation-éclair dans l'œnologie. Nous pensons que c'est une observation à retenir, quoiqu'elle doive être confirmée par des essais futurs.

Il importe aussi de signaler les résultats obtenus par Valvassori dans les essais de pasteurisation-éclair des vermouths (12).

Comportement des vins stabilisés soumis de nouveau a l'action de la chaleur

Tous les échantillons de vin soumis à des températures d'environ 85 °C, les témoins inclus, se sont maintenus inaltérés, sans trouble et sans aucun dépôt.

Comportement des vins au cours du vieillissement

Cinq séries d'essais ont été organisées à partir des vins stabilisés, comme il a été indiqué ci-dessus ; on a ajouté à ces vins des substances antioxydantes (anhydride sulfureux et acide ascorbique), afin de prévenir les oxydations produites par la disso-

lution de l'oxygène, ce qu'on vérifie surtout dans les vins qui ont été soumis à l'action des basses températures. On a procédé aux essais suivants :

Série 1 (témoin) — Vins qui ont été uniquement soumis aux traitements indiqués dans le tableau 1.

Série 2 — Vins additionnés de 0,2 g d'acide ascorbique par litre.

Série 3 — Vins additionnés de 0,03 g d'anhydride sulfureux (total) par litre, avec aération 24 h après.

Série 4 — Vins additionnés de 0,2 g d'anhydride sulfureux (total) par litre, avec aération 24 h après.

Série 5 — Vins additionnés de 0,3 g d'acide ascorbique et 0,05 g d'anhydride sulfureux par litre, sans aération.

Les observations enregistrées sur le comportement de ces vins restés en cave pendant environ 8 mois, font partie d'un tableau qu'il est difficile d'inclure ici. Cependant, pour le moment, nous pouvons résumer nos observations de la manière suivante :

— Tous les vins, examinés par transparence, se sont maintenus limpides.

— Tous les témoins, au cours du temps, présentaient, comme on a prévu, un dépôt en quantité appréciable et parfois même abondant.

— Les traitements par la chaleur (85° et 104 °C) ont montré une tendance à la formation des dépôts, affaiblie ou même annulée par la présence des substances antioxydantes qui protègent le vin des fortes oxydations.

— Le traitement par les résines s'est montré (avec des réserves) d'un certain intérêt, lorsque le vin était préalablement clarifié avec une association de bentonite et de gélatine et convenablement protégé des oxydations avec les substances antioxydantes indiquées.

— Les traitements par le froid (— 9 °C) et par l'ensemble froid et chaleur (— 9 °C et 85 °C ou — 9 °C et 104 °C) nous offrent une parfaite stabilisation, compte tenu du délai considéré, et ne présentent pas des dépôts. Il est certain que la présence des substances antioxydantes, comme l'a démontré MARQUES GOMES (19, 20, 21), contribue beaucoup à assurer et maintenir cette stabilisation.

— A l'inverse de ce qu'on a observé sur le comportement des échantillons soumis à de basses températures (— 9 °C), on n'a pas enregistré ici des différences de comportement entre les vins qui ont été préalablement soumis à la réfrigération et, ensuite, à la pasteurisation (A_4, A_5, B_4 et B_5) et les autres qui ont été traités dans un ordre inverse (A_6 et B_6).

APPRÉCIATION ORGANOLEPTIQUE

L'obtention de l'unanimité dans l'appréciation et la classification des vins qui ont été soumis aux divers essais, a été un problème difficile à résoudre. Après diverses tentatives sans résultats, même avec recours à la méthode de note, on a donné la préférence à un essai de classification des vins en deux classes, échelonnées par ordre décroissant de qualité. Cependant, on doit noter que les vins classés en second lieu n'ont été, d'aucune façon, considérés par les dégustateurs comme possédant des défauts reprochables, mais seulement que leur qualité n'était pas aussi bonne

que celle des autres groupes. De l'avis des dégustateurs, on restait avec l'impression que toutes les modalités des traitements essayés pourraient être acceptées, s'ils nous apportent des solutions satisfaisantes de stabilisation.

L'opinion du « Groupement Consultatif de Dégustateurs » de l'Institut du Vin de Porto, organe officieux composé par trois dégustateurs capables, choisis et désignés par le commerce exportateur, a été la suivante :

Groupe A

1re Classe	2e Classe
A - Témoin	A_2 - Pasteurisation à 85 °C
A_1 - Réfrigération à — 9 °C	A_6 - Pasteurisation à 85 °C (Réfrigération à — 9 °C)
A_3 - Pasteurisation éclair à 104 °C	A_7 - Résine échangeuse Zéocarb 225
A_4 - Réfrigération à — 9 °C (Pasteurisation à 85 °C)	
A_5 - Réfrigération à — 9 °C (Pasteurisasation éclair à 104 °C)	

Groupe B

1re Classe	2e Classe
B - Témoin	B_1 - Réfrigération à — 9 °C
B_3 - Pasteurisation éclair à 104 °C	B_2 - Pasteurisation à 85 °C
B_4 - Réfrigération à — 9 °C (Pasteurisation à 85 °C)	B_7 - Résine échangeuse Zéocarb 225
B_5 - Réfrigération à — 9 °C (Pasteurisation éclair à 104 °C)	

L'échantillon B_6 a été rejeté parce qu'il était défectueux.

Le « Groupement Consultatif de Dégustateurs » a été aussi d'avis que bien que les vins du groupe A présentent plus de vinosité que ceux du groupe B, cette dernière modalité pouvait être préférée si l'efficacité du traitement, au point de vue de la stabilisation, était meilleure.

Analyse physique et chimique

Afin de voir si l'incidence des traitements avait provoqué des variations sensibles dans la composition des vins en étude, on a réalisé des analyses suffisamment complètes qui ne seront pas données ici.

D'ailleurs, nous ne trouvons pas de motifs, dans ce chapitre, qui justifient des commentaires spéciaux. D'une façon générale, les petites variations enregistrées, qui se situent entre les erreurs normales systématiques d'analyse ou d'imparfaite homogénéisation des lots, n'ont aucune signification spéciale. Bien entendu on fait exception (d'ailleurs attendue) pour les variations des cations dans les vins qui ont traversé les colonnes de résines échangeuses.

On signale seulement des variations sensibles dans la teneur de l'azote (total et ammoniacal) des vins stabilisés par des résines et nous pensons pouvoir les attribuer à l'adsorption par les échangeurs.

De ce premier essai de stabilisation du vin de Porto, on peut retenir les orientations suivantes :

— Parmi les traitements essayés, la modalité qui a donné, jusqu'à présent, une parfaite satisfaction, a été la réfrigération à — 9 °C pendant 6 à 7 jours, suivie d'une pasteurisation à 85 °C pendant 5 à 6 mn ou d'une pasteurisation-éclair, à 104 °C, pendant, à peu près, 7 secondes.

Le traitement dans l'ordre inverse, c'est-à-dire, d'abord la chaleur et, ensuite, le froid, n'a pas réussi.

TABLEAU 2

Essais de stabilisation du vin de Porto

Dénomination	Essais effectués en juin 1962 Observations effectuées le 19 février 1963				
	Série 1	Série 2	Série 3	Série 4	Série 5
	VIN ORIGINEL				
A	+++	+++	+++	++	++
A_1	0	0	0	0	0
A_2	++	+ (—)	++	0	0
A_3	+	+ (—)	+	0	0
A_4	0	0	0	0	0
A_5	0	0	0	0	0
A_6	0	0	0	0	0
A_7	++	++	++	+ (—)	+
	VIN PRÉALABLEMENT CLARIFIÉ AVEC DE LA BENTONITE ASSOCIÉE A LA GÉLATINE				
B	++	++	+++	+	+
B_1	0	0	0	0	0
B_2	++	0	0	0	0
B_3	++	0	0	0	0
B_4	0	0	0	0	0
B_5	0	0	0	0	0
B_6	0	0	0	0	0
B_7	0	0	0	0	0

0 absence absolue de dépôt
+(—) absence douteuse de dépôt
+ dépôt très léger
++ dépôt notable
+++ dépôt abondant

— La clarification préalable du vin avec la bentonite associée à la gélatine semble contribuer au bon résultat des traitements, soit par le froid et par la chaleur, simples ou associés, soit par les résines échangeuses.

— La persistance de la stabilisation du vin dépend, dans une large mesure, de sa future protection contre les oxydations. L'emploi, comme antioxydants, de l'anhydride sulfureux et de l'acide ascorbique, de préférence associés, semble avoir un grand intérêt.

— Au point de vue de la dégustation ou de l'efficacité de la stabilisation, il semble que l'emploi de la pasteurisation-éclair (104 °C pendant 7 s) est plus convenable que la pasteurisation simple (85 °C pendant 5 à 6 mn).

Références bibliographiques

(1) Bessa Ribeiro. *Anais I.V.P.*, 1940, 7. (2) H. de Almeida. *Anais, I.V.P.*, 1953, 2. (3) Vasconcelos e Lencastre. *Anais I.V.P.*, 1940, 8. (4) Valle Teixeira Junior. *Anais I.V.P.*, 1940, 10. (5) H. de Almeida. *Anais I.V.P.*, 1958, 1. (6) H. de Almeida. *Anais I.V.P.*, 1960, 1. (7) J. Ribéreau-Gayon. *Traité d'Œnologie, Transformations et traitements des vins*, 1947. (8) J. Ribéreau-Gayon. *Interprétation scientifique de la pratique œnologique du vieillissement*, Bull. O.I.V., 1949, p. 221. (9) H. de Almeida. *Anais I.V.P.*, 1950, 1. (10) A. Bertuzzi. *Rivista Enol.*, 1953, 2.

(11) A. Bertuzzi. *Rivista Vitic. Enol.*, 1957, 2 et 3. (12) S. Valvassori. *Rivista Vitic. Enol.*, 1960, 6. (13) L. Paronetto. *Rivista Vitic. Enol.*, 1960, 6. (14) A. Bertuzzi. *Un nuevo tratamiento para los vinos : La « Lamporizzazione »*, 1954, Nov. (15) J. Ribéreau-Gayon et P. Ribéreau-Gayon. *Amer. Journ. Enology*, 1958, vol. 9, n° 1. (16) I. Mareca Cortes et M. de Campos Salcedo. *Indust. Alim. et Agric.*, 1957, 2. (17) I. Mareca Cortes. *Indust. Alim. et Agric.*, 1962, 9-10. (18) I. Mareca Cortes et M. de Campos Salcedo. *Patronato « Juan de la Cierva» de Investigacion Tecnica*, 1959, Cuaderno 14. (19) V. Marques Gomes et M. Vaz Oliveira. *Anais I.V.P.*, 1962. (20) J.V. Marques Gomes et M. Vaz Oliveira. *Etude de l'action enzymatique dans la conservation et l'évolution des vins de Porto. Stabilisation par l'acide sulfureux*, 1962.

(21) J.V. Marques Gomes et M. Vaz Oliveira. *Etude de l'action enzymatique dans la conservation et l'évolution des vins de Porto. Enzymes naturels et microbiens des vins*, 1961. (22) R. Guesdes Salgado, *Anais da Junta Nacional do Vinho*, 1961, vol. XIII.

Résumé

L'auteur passe en revue les facteurs physiques et chimiques déjà étudiés qui sont à considérer pour l'étude de la stabilisation du vin de Porto rouge : le pH, le potentiel rédox, les cations fer, cuivre, potassium et calcium, les tanins, les aldéhydes et la matière colorante.

Il présente le schéma des traitements qu'ont subis deux lots d'un même vin de Porto rouge (rubis), l'un originel et l'autre préalablement collé conjointement avec la bentonite et avec la gélatine. Dans les deux lots, on a essayé les traitements suivants : la réfrigération, le chauffage et les résines échangeurs d'ions.

L'auteur étudie encore l'influence des substances antioxydantes (anhydride sulfureux et acide ascorbique) dans la protection du vin après le traitement et aussi sur le prolongement de la période de stabilisation.

Finalement, il présente les premières orientations recueillies dans ces essais.

PROBLEMS CONCERNING THE STABILIZATION OF PORT WINE

M. PACHECO DE AZEVEDO

Summary

The author discusses the physical and chemical factors which have already been considered and must be examined for the study of the stabilization of red Port wine i.e. pH, redox potential, iron, copper, potassium and calcium cations, tannins, aldehydes and coloring matter.

He diagrams the treatments undergone by two samples of the same red Port wine (ruby), one which was untouched and the other one of which was jointly pretreated with bentonite and gelatin. The following treatments have been tried on both samples : refrigeration, heating and ion-exchange resins.

The author also examines the influence of antioxidizing substances (sulfur dioxide and ascorbic acid) in the protection of wine after treatment and, at the same time, their influence on the prolongation of the stabilization.

Finally, he submits the first orientations gathered though these tests.

PROBLEME BEI DER STABILISIERUNG VON PORTWEIN

M. PACHECO DE AZEVEDO

Zusammenfassung

Bei der Erläuterung zum Thema Stabilisierung von rotem Portwein hält sich der Verfasser an die bereits bekannten und zu berücksichtigenden physikalischen Faktoren, pH-Wert, Redox-Podential an die Kationen Eisen, Kupfer, Kalium und Kalzium, an die Gerbstoffe, Aldehyde und Farbstoffe. Er zeigt ein Schema einer derartigen Behandlung auf, die an zwei Teilen des gleichen roten Portweines (rubis), der einmal in ursprünglichen Zustand und das andere Mal nach Behandlung mit Bentonit und Gelatine vorgenommen wurde. Beide Anteile hat man noch der nachstehenden Behandlung unterzogen : Erhitzung, Kühlung und Ionenaustausche. Der Verfasser führt noch den Einfluss der Anti-Oxydantien (Schwefelige Säure und Askorbinsäure) zum Schutze des Weines nach der Behandlung und zur Verlängerung der Stabilität an. Zum Abschluss zeigt er noch die ersten Engebnisse aus diesen Versuchen auf.

PROBLEMI DI STABILIZZAZIONE DEL VINO DI PORTO

M. PACHECO DE AZEVEDO

RIASSUNTO

L'autore passe in rasségna i fattori fisici e chimici precedentemente studiati che vanno considerati nello studio della stabilizzazione del vino di Porto rosso : il pH, il potenziale di ossidoriduzione, i cationi ferro, rame, potassio e calcio, i tannini, le aldeidi e la matèria colorante.

Presenta inoltre lo schema dei trattamenti che hanno subito due lotti di uno stesso vino di Porto rosso (rubis) : l'uno originale e l'altro preventivamente chiarificato con bentonite e gelatina. Sui due lotti sono stati sperimentati i trattamenti seguènti : la refrigerazione, il riscaldamento e le resine scambiatrici di ioni.

L'autore studia ancora l'influenza delle sostanze antiossidanti (anidride solforosa ed acido ascorbico) sulla protezione del vino dopo il trattamento ed la loro azione sul prolungamento del periodo di stabilizzazione.

Infine espone i primi orientamenti desunti da queste esperienze.

PROBLEMAS DE ESTABILIZACIUN DEL VINO DE OPORTO

M. PACHECO DE AZEVEDO

RESUMEN

El autor considera los factores fisicos y quimicos ya estudiados y que intervienen en el estudio de la estabilizacion del vino de Oporto tinto : el pH, el potencial redox, los cationes hierro cobre, potasio y calcio, los taninos, los aldehidos y la materia colorante.

Presenta el esquema de los tratramientos que han sufrido dos lotes de un mismo vino de Oporto tinto (rubis) ; uno original y el otro previamente clarificado conjuntamente con bentonita y gelatina. En los dos lotes se ensayaron los tratamientos siguientes : la refrigeración, el calentamiento y las resinas cambiadoras de iones.

El autor estudia tambien la influencia de las substancias antioxidantes (anhidrido sulfuroso y acido ascorbico) en la protección del vino despues del tratamiento y tambien en la prolongación del periodo de estabilizacion.

Finalmente, presenta las primeras orientaciones obtenidas de esas pruebas.

DISCUSSION

M. BRISSART (Bordeaux) : Dans le cas de chauffage après réfrigération, effectuez-vous la flash-pasteurisation à la sortie de la cuve isothermique de réfrigération, en partant de la température de — 9 °C, ou lorsque le vin est revenu à la température ambiante ?

Réponse : A la sortie de la cuve de réfrigération, le vin est passé immédiatement, après filtration, dans l'appareil de flash-pasteurisation, en traversant un échangeur de température.

M. BERGERET (Dijon) : L'association de l'anhydride sulfureux et de l'acide ascorbique a-t-elle un effet néfaste sur la couleur du vin de Porto ? Agit-elle dans le sens d'une diminution de la couleur ou a-t-elle un effet protecteur ?

Réponse : En ce qui concerne les expériences décrites, les bouteilles conservées n'ont pas été encore ouvertes. Dans d'autres essais préalables, je n'ai pas observé de diminution de la couleur ; par contre j'ai observé une bonne protection de la couleur soit avec l'acide ascorbique, soit avec l'association acide ascorbique et acide sulfureux.

PRODUITS DE REVÊTEMENT DU LOGEMENT ET DU MATÉRIEL

A. BARBEDO GALHANO

Commission de Viticulture de la Région des Vins Verts, Porto (Portugal)

C'est avec une grande et profonde joie que j'ai reçu l'invitation des organisateurs de ce Symposium. L'hommage que l'on rend à une si haute personnalité scientifique que le temps élève toujours davantage, peut également contenir une contribution, aussi modeste soit-elle. Cependant, je suis réellement confus. Il n'y a pas encore longtemps, et sous le patronage de quelques-uns des organisateurs de ce Symposium, une parfaite et très complète mise au point a été faite quand au sujet qui m'a été proposé.

Je me rapporte aux conférences prononcées lors des dernières démonstrations de motoviticulture réalisées à Montpellier en octobre 1962, au cours desquelles ont été si bien traités les différents aspects que le revêtement du logement et du matériel pose aujourd'hui à l'industrie œnologique. Je ne peux donc rien vous apporter de nouveau et je le regrette. Je ne pourrai pas faire de mise au point puisqu'elle a été déjà faite. J'exposerai le problème, qui se pose pour la deuxième fois, au moins, dans l'histoire du vin, cette boisson si profondément liée aux civilisations méditerranéennes.

Nous pouvons imaginer ce qu'ont été les préoccupations du viticulteur grec ou romain et même celles de ceux qui ont précédé ces civilisations, face à leurs amphores de fermentation, de conservation ou de transport dont la porosité de la terre cuite ne permettait pas une étanchéité suffisante et qui transmettaient au vin un goût désagréable d'argile. Et la solution trouvée, certainement à la suite de laborieuses recherches au cours des générations, est parvenue jusqu'à nous, représentée par certains vins qui perpétuent une tradition millénaire et dont le goût étrange dû aux enduits qui recouvrent les amphores, dans la composition desquels entrent des graisses, des résines et de la poix, est devenu un caractère apprécié.

Si les possibilités d'alors n'aboutirent pas à une solution parfaite, nous devons reconnaître comme châtiment des vanités de notre époque orgueilleusement technique, que nous n'avons pas atteint non plus une totale perfection, je ne dis plus technique, mais technico-économique. Après l'usage des amphores en terre cuite, les futailles en bois font leur apparition dans l'histoire du vin. Perfectionnement notable et matériau présentant des qualités non encore dépassées aujourd'hui. Le bois qui peut être facilement aviné a pratiquement relégué les vieilles amphores dans les musées et le problème des revêtements a perdu, pendant très longtemps, de son

importance. Il fallut que le temps passât, que de nouvelles techniques naquissent pour qu'à nouveau, quelques siècles s'étant écoulés, le même problème de revêtement préoccupât les œnologues.

L'extension du vignoble, l'énorme augmentation de production du vin, la transformation de sa fabrication de caractère artisanal en industrie à grand débit et l'apparition de nouveaux matériaux de construction sont venues, à leur tour, détrôner le bois.

Voyons d'abord quelles sont les caractéristiques que doivent présenter les surfaces en contact avec le vin, tant en ce qui concerne le logement qu'en ce qui concerne le matériel. Premièrement : innocuité totale au point de vue toxicologique. Deuxièmement : aucune influence nocive dans la composition et le goût du vin. Et encore, étanchéité convenable, résistance à l'abrasion et au choc, faible adhérence pour le bitartrate, résistance aux produits de lavage et de désinfection, durabilité. Lorsqu'il s'agit de produits de revêtement, ils devront, outre ces caractéristiques, posséder des qualités d'adhérence et d'élasticité. La dernière, mais non la moins importante des caractéristiques, est d'être d'un prix compatible avec l'économie du vin.

La première condition est intuitive. On ne peut pas employer des matériaux qui, par leur composition, puissent transformer le vin en une boisson toxicologiquement condamnable, ni oublier le caractère cumulatif de tant de substances nocives à la santé humaine. Cet aspect du problème présente de grandes difficultés étant donné que beaucoup de produits qui actuellement constituent les surfaces en contact avec le vin sont d'une composition très complexe et pas du tout facile à identifier. Nous aurons l'occasion de parler plus loin de la nécessité d'une réglementation de la composition de ces matériaux et de la codification de son contrôle analytique.

La seconde condition a été formulée avec restriction. Ici, la première étant respectée, ce qu'il faut exiger c'est que les matériaux en contact avec le vin ne le déprécient pas, ce qui laisse entendre qu'ils peuvent même l'améliorer. C'est le cas du bois de chêne, dont on trouve actuellement l'empreinte gustative dans tant de vins de grands crus.

Quant à l'étanchéité, nous la désirons également convenable. Elle devra être totale dans des cuveries en ciment, des cuves métalliques ou plastiques, c'est-à-dire, quand le logement n'a pas d'autre but que la fonction d'emmagasinage ou de transport. Mais pour ce qui est des vins dont le caractère comporte des phénomènes de lente oxydation au cours du vieillissement, l'étanchéité doit être relative et non absolue. C'est une des vertus inégalées du bois.

La résistance mécanique à l'abrasion et au choc est évidente. Le travail de vinification, l'enlèvement du marc des cuves de fermentation, tout un travail d'une certaine violence et effectué en des périodes d'intense activité par un personnel d'occasion pas toujours soigneux, rendent ces qualités précieuses.

Il est préférable que l'adhérence du bitartrate de potassium sur les surfaces de contact soit faible, mais sa meilleure valeur varie selon la nature de la paroi. Cette considération importe peu lorsqu'il s'agit du bois, elle a une grande importance lorsqu'il s'agit de revêtements en matériaux asphaltiques, et encore lorsqu'il s'agit de cuves destinées à des fins spéciales qui imposent un fréquent détartrage total.

La nécessité d'une hygiène parfaite du logement justifie la caractéristique de résistance au lavage et aux produits de désinfection. La durabilité est un facteur qui joue sur l'estimation du coût et peut être décisive.

Les caractéristiques d'adhérence et d'élasticité ont une importance spéciale. Le produit avec lequel on couvre une surface à isoler doit, pour ainsi dire, en faire intégralement partie, ne pas se laisser arracher facilement, mais en même temps avoir

l'élasticité suffisante pour accompagner tous les mouvements de rétraction et de dilatation et encore, quand il s'agit de cuves métalliques, ne doit pas se détacher ou éclater sous l'effet du choc ou des vibrations.

J'ai dit enfin que l'aspect du coût était fondamental. Au moment où les facteurs qui composent le coût de la production sont examinés jusque dans leurs plus petits détails, quand on chronomètre le travail humain et celui de la machine, on oublie souvent d'observer la rentabilité des investissements quand il s'agit de matériaux nouveaux desquels on attend la solution de problèmes difficiles. Cependant si la solution n'est pas économiquement parfaite, elle ne peut être défendable.

Dans une certaine mesure et en ne considérant que ce qui est fondamental, les différences entre les caractéristiques exigibles pour le revêtement du logement et du matériel ne sont pas grandes. Elles varient sans doute en fonction du support et du travail auxquels ils sont soumis, mais l'innocuité, l'inertie chimique, la résistance mécanique et aux produits de lavage, la durabilité, l'adhérence, l'élasticité, etc., doivent toujours être recherchées.

Envisageons alors les deux aspects : revêtement du logement, revêtement du matériel. En ce qui concerne l'isolement du logement il faut considérer successivement, la futaille en bois, la cuverie en ciment, les cuves métalliques.

Futailles en bois

Je crois que le bois perd peu à peu de son importance. Toutefois, lorsqu'il s'agit de vins de grands crus pour lesquels le vieillissement impose l'utilisation de futailles en bois, celui-ci sera toujours actuel. L'avinage continuera à se faire par les vieux procédés connus, en ayant recours à la vapeur sous pression et aux solutions alcalines ou salines à chaud. La garantie de l'étanchéité que la substitution de la fente par le sciage vint aggraver, peut se résoudre, en mieux ou en pire. A mon avis aucune des solutions actuelles les plus répandues ne donne entière satisfaction. Ni la colle de menuisier rendue insoluble par le bichromate de potassium, ni les silicates ne sont exempts de critiques, mais les bitumes à base d'asphalte dans des dissolvants appropriés peuvent donner de bons résultats dans certains cas, du moment que l'on arrive à éliminer tout le solvant. D'autre part, on peut espérer, non sans raison, disposer bientôt de certains plastiques qui répondent aux conditions requises.

Et cependant, isoler le bois, le rendre entièrement imperméable, ne serait-ce pas éliminer une grande partie de ses vertus ? Mettons de côté la futaille en bois, matériel presque idéal sous certains aspects, mais que les conditions actuelles, économiques, de concentration de production et autres, rendent d'une utilisation chaque jour plus difficile.

Cuverie en ciment

Les plus grandes surfaces de revêtement se trouvent dans les cuveries en ciment.

Puisque le vin, par ses composants de réaction acide, réagit avec les matériaux qui composent le ciment, on est obligé de l'isoler du contact avec les parois des cuves. Les procédés auxquels on a recouru peuvent être classés en deux groupes principaux :

1) Emploi de produits réagissant avec les composants du ciment et donnant des composés insolubles.

2) Revêtement avec des matériaux inertes.

Dans le premier groupe figurent l'acide tartrique, les silicates et les fluosilicates. Mis à part les silicates et les fluosilicates, inexplicablement et pendant si longtemps recommandés dans la bibliographie de la spécialité et employés dans la pratique, car ni la réaction avec la chaux n'est complète, ni les composés formés ne sont inattaquables par le vin, ce qui occasionne des altérations qui peuvent aller jusqu'à le rendre impropre à la consommation, il ne reste que le traitement à l'acide tartrique.

Bien que le tartricage ne soit pas un procédé donnant entière satisfaction, c'est encore le plus usité et celui qui possède le moins d'inconvénients. Malgré les défauts qui lui sont attribués, l'influence sur les vins rouges de consommation courante est négligeable. Il n'en est pas de même avec les vins blancs contenant des teneurs appréciables d'anhydride sulfureux libre ou avec les « mutés », étant donné que le bitartrate formé n'empêche pas l'attaque et la désagrégation de l'enduit de ciment. Retenons seulement que pour le tartricage, la chape de ciment doit être parfaitement glacée et non talochée. Cet aspect du finissage de la surface de la chape de ciment est important. On dit entre nous que le secret de l'étanchéité et de la durabilité de la chape est dans la truelle. C'est de l'adresse et spécialement de l'honnêteté de l'ouvrier qui effectue le « talochage », en n'employant jamais de ciment en poudre, mais en serrant les masses de telle sorte que les plus fines particules remontent à la surface, que dépend la qualité finale de la chape.

Nous rappelons encore que l'acide tartrique employé doit être exempt de substances toxiques, comme le plomb et l'arsenic par exemple. Je ne parlerai pas de l'emploi de l'acide sulfurique qui est parfois encore recommandé sans justification valable.

Le deuxième groupe, celui des matériaux inertes, englobe un nombre toujours croissant de produits. Il peut comprendre différents matériaux de composition très différente que nous groupons en trois rubriques pour faciliter l'exposé : *a)* carreaux en verre et en grès céramique ; *b)* bitumes asphaltiques ; *c)* résines plastiques et apparentées.

a) Carreaux en verre et grès céramique. — Ils donnent de bons résultats quant à l'inertie chimique envers le vin et quand ils sont bien appliqués durent très longtemps. Outre le prix de revient élevé, on leur attribue divers inconvénients dont le principal est la possibilité de se décoller par suite de la cristallisation du bitartrate que de minimes infiltrations de vin par les jointures peuvent provoquer.

A ce propos, je voudrais attirer l'attention sur l'importance de la composition de l'émail utilisé dans les carreaux en grès céramique. Nous avons eu l'occasion dans notre laboratoire, de vérifier des pollutions saturniques provoquées par des émaux à base de sels de plomb. Même avec ceux que le fabricant garantissait ne pas être en verre plombique, le vin s'enrichissait en traces de ce métal. Le manque de pureté des composants de l'émail était responsable de la pollution. Dans ce procédé, il est nécessaire que les joints soient traités ou isolés.

b) Bitumes asphaltiques. — Ces produits se présentent sous trois formes : pour application à chaud, fondus et appliqués à la spatule, à la brosse dure, ou au pistolet ; dissous dans des solvants volatils appropriés ; en émulsion aqueuse.

Chacune de ces trois formes a des avantages et des inconvénients. Les bitumes d'application à chaud sont d'une mise en œuvre délicate et la moindre trace d'humidité sur la chape en ciment compromet l'adhérence ; un trop grand échauffement

du bitume asphaltique peut, dans certains produits, occasionner des odeurs qui se communiquent au vin.

— Les laques donnent des surfaces lisses et brillantes, mais l'élimination totale du solvant est lente et difficile, mais quand même indispensable.

Les émulsions aqueuses possèdent de grands avantages, soit parce que leur application est facile, soit parce qu'elles ont une bonne élasticité et une bonne adhérence ; leur réparation est facile et bon marché, mais elles sont peu résistantes à l'usure et lors du détartrage elles sont souvent arrachées avec le tartre. Il faut rappeler les nombreux cas d'insuccès total lorsqu'elles sont employées dans des cuves de fermentation. Cependant, ce groupe de produits possède de réelles qualités et donne entière satisfaction en beaucoup de cas. La courte référence que nous lui faisons ne traduit pas un désintéressement ou une moindre importance dans l'industrie œnologique, mais signifie seulement que ses qualités et défauts sont déjà bien connus.

c) Résines plastiques et analogues. — Nous arrivons enfin à un groupe chaque jour plus nombreux, que nous pourrions appeler groupe des revêtements macromoléculaires. On peut y englober de nombreuses et très variées résines synthétiques, aussi bien que les caoutchoucs, et il est impossible, au cours de ce rapide exposé de les étudier en détail ou même de les énumérer seulement. Nous allons trouver dans ce groupe des produits qui répondent presque totalement aux caractéristiques énoncées plus haut, mais leur coût et, jusqu'à un certain point, les difficultés d'application qui exigent une main-d'œuvre très spécialisée, freinent leur rapide généralisation. Dans l'impossibilité d'une exposition détaillée, rappelons-nous les travaux de tant de chercheurs qui se sont occupés de ce sujet, et dont le nombre traduit son importance et son actualité.

Le grand nombre de marques commerciales de produits de ce genre qui sont présentés sur le marché traduit en même temps l'importance des revêtements et les possibilités que les résines synthétiques apportent à leur solution. Malheureusement, beaucoup de ces produits commerciaux ne correspondent pas à ce que l'on serait en droit d'attendre. La complexité de ces matériaux, produits de la chimie des macromolécules, impose une spécification légale serrée, car il n'est ni facile, ni commode, ni économique au viticulteur de vérifier, chaque fois qu'il s'en sert, leur inertie et en particulier l'absence de toxicité ; il est donc souhaitable qu'aucun produit ne puisse être commercialisé sans pré-agrément des autorités compétentes.

Outre cet aspect, permettez-moi d'émettre un doute. Quelle est l'influence des plastiques sur la composition du vin ?

En tant qu'exemple seulement, je me rappelle que l'on attribue aux bouchons plastiques une certaine facilité de diffusion de l'oxygène qui irait altérer la valeur rédox caractéristique des mousseux pour lesquels ils sont employés. J'ai vérifié cette oxydation dans des vins blancs, mais je ne peux pas l'attribuer à la diffusion de l'oxygène. En essayant la possibilité de l'usage de petits flacons et de damesjeannes en plastique, j'ai vérifié une oxydation brutale du vin qu'ils contenaient. L'inclusion de ces flacons dans un bloc de paraffine solide, qui les isolait complètement de l'air, n'améliora pas leur conduite. Il semble donc qu'il s'agit d'une influence directe et non de l'oxygène diffusé à travers la paroi.

Je ne veux pas par cette remarque présenter quelque doute sur l'emploi, dans l'avenir, des plastiques dans l'industrie œnologique, mais faire remarquer qu'il faut encore étudier la question autant en ce qui concerne la composition du matériel en soi, qu'en ce qui concerne les influences mutuelles entre celui-ci et le vin.

Toutefois, actuellement, de nombreux plastiques ont déjà donné de bons résultats quant à l'isolement des cuves de fermentation et de logement. Un des principaux points à considérer pour son application est le finissage de la chape en ciment puisque d'elle dépend l'adhérence du revêtement. L'application des matières plastiques est délicate et exige une main-d'œuvre très compétente et très consciencieuse. Selon la forme sous laquelle se trouvent les résines (dissoutes dans des solvants volatils, en plaques, à l'état plus ou moins pâteux), surgissent divers problèmes que la technique d'application cherche à résoudre ; elle y arrive avec plus ou moins de facilité. L'unique inconvénient, outre celui de la délicatesse d'application, est son coût élevé.

Les polyvyniles ont eu jusqu'à aujourd'hui une place choisie, mais je crois que deux autres types de plastiques, les résines époxy et les polyuréthanes, auront une grande application ; leurs qualités d'inertie chimique, leur dureté, leur résistance à l'abrasion, leur relative élasticité et leur adhérence sont notables.

Avant de terminer ce bref aperçu sur le revêtement des cuves en ciment, je voudrais décrire d'une façon assez détaillée un procédé utilisé dans les cuves de vin blanc des caves coopératives de la région des Vins Verts. La qualité de l'arôme de ces vins qui s'oxydent facilement, oblige à maintenir toujours une petite quantité d'acide sulfureux libre, ce qui provoque, comme chacun sait, l'attaque de la chape en ciment. Le coût élevé du verrage, l'impossibilité de recourir à des émulsions asphaltiques (une fermentation malolactique intense favorise la désagrégation du bitume) poussa à l'adoption du procédé que je vais décrire.

Le cuverie étant terminée avec le finissage de la chape parfaitement polie et après les épreuves d'étanchéité, on laisse sécher la paroi. On fait alors un rusticage avec une masse de ciment et de sable. Après la prise, on applique un enduit de ciment et de sable siliceux pas trop fin, environ 1 ou 2 mm, enduit qui ne doit pas dépasser cinq millimètres d'épaisseur et qui est seulement très légèrement taloché.

Après un bon séchage, on procède au tartricage comme de coutume, mais en laissant sécher et en lavant au jet d'eau entre chaque application d'acide tartrique. A la suite d'un dernier lavage soigneux, on laisse sécher définitivement.

L'enduit de ciment et de sable, qui n'a pas été serré, conserve une structure spongieuse et est, par la suite, saturé à chaud, à l'aide d'un chalumeau, de paraffine à bas point de fusion. On obtient cette parafine, en mélangeant deux tiers de parafine solide (point de fusion 57 °C à 58 °C) avec un tiers d'huile de parafine.

Nous avons commencé à utiliser ce procédé pour les cuves de conservation de vins blancs, mais aujourd'hui nous l'employons aussi pour les cuves de fermentation. La faible adhérence du tartre et la facilité de lavage n'obligent pas à effectuer la décoloration des parois des cuves de fermentation qui servent ainsi indifféremment aux vins rouges ou aux vins blancs. Les résultats sont bons. Après cinq ans d'usage, les cuves ne présentent pas la moindre attaque. Dès leur première utilisation, on a remarqué qu'il n'y avait pas de réactions avec les acides du vin et que ce dernier ne s'enrichissait pas en fer, même après un délai de contact de plusieurs mois.

C'est, comme vous pouvez le constater, un procédé purement artisanal, bon marché, il n'a pas dépassé 12 $00 (deux francs) par m^2, mais qui répond de façon très satisfaisante aux caractéristiques fondamentales formulées au départ.

Cuves métalliques

Plus récemment, l'emploi des fûts métalliques vient aggraver les difficultés de l'isolement. Les caractéristiques des revêtements sont celles déjà mentionnées, mais

les vibrations et les chocs extérieurs sur les fines parois exigent que l'adhérence soit parfaite et qu'il ne se produise pas d'éclatements ; comme il s'agit d'un matériel en lui-même déjà cher, l'aspect du coût des revêtements ne se pose pas avec le même caractère fondamental. Ou le revêtement est bon, correspondant à toutes les exigences techniques, ou le matériel est inutilisable.

Les possibilités de soumettre le matériel au four rendent possible l'emploi de verre fondu, d'émaux, de laques cuites et de plastiques thermo-durcissables. Il est donc nécessaire que l'industrie qui produit ce matériel, cherche des solutions techniquement parfaites mais économiques. Les grands avantages des cuves métalliques s'étendent à toutes les phases de la vie du vin, depuis la fermentation jusqu'au transport, et il suffira de citer la facilité d'irradiation thermique, de mobilité, de lavage, de légèreté, de résistance à la pression et de tant d'autres, pour comprendre tous les avantages de ce matériel.

Mais la solution parfaite sera-t-elle obtenue par les revêtements ou par les matériaux eux-mêmes ? Les aciers inoxydables, les aciers bimétalliques et les matériaux plastiques doivent apporter, dans l'avenir, la solution.

Isolement du matériel

Au cours de ce rapide aperçu il faut encore envisager le matériel servant aux manipulations et aux traitements des vins. Tout comme pour le logement, la structure et la dimension actuelle de l'industrie œnologique poussent à l'abandon total des procédés où, dans de toutes petites installations, il était possible, sans regarder les dépenses de la main-d'œuvre, d'éviter tout contact du vin avec les matériaux pouvant le déprécier. La mécanisation pratiquement totale de la fabrication, de la manutention et des opérations de cave, les plus diverses, foulage, pompages soutirages, filtrages, etc. placent d'abord la vendange et ensuite le moût et le vin en contact avec différents matériaux qui sont loin d'être chimiquement inertes.

Chaque fois qu'il y a des efforts de friction (fouloirs, pompes, etc.), les revêtements sont aléatoires et seule la qualité des matériaux peut apporter une solution valable. Les aciers inoxydables ou les alliages de haute résistance aux acides devront avoir la préférence pour les pièces métalliques, éliminant des pollutions dues au fer, au cuivre, à l'étain et à d'autres métaux.

Pour les tuyauteries et le petit appareillage, les plastiques sont venus apporter des solutions convenables. Mais ici aussi et comme toujours, la qualité doit obéir à des règles. Ce n'est pas seulement la nature du matériel en lui-même, ce sont également les plastifiants, les stabilisateurs, les pigments et les « charges » qui conditionnent la possibilité finale de l'emploi des appareils et du matériel.

On connaît bien la pollution par le plomb à partir de tuyaux en caoutchouc dans la composition duquel entrent des sels de plomb comme charge et pigment. Nous avons observé également que des tuyaux plastiques peuvent laisser des traces de plomb dans les vins, dues certainement à des plastifiants « non alimentaires ».

Dans d'autres classes d'appareils tels les robinets, les filtres, les trappes et les portes, les embouteilleuses, les boucheuses, et tant d'autres, les plastiques et les aciers inoxydables sont encore les matériaux qui correspondent entièrement aux exigences techniques.

En conclusion, nous croyons pouvoir affirmer que le problème de l'isolement du vin en contact avec les matériaux du logement et du matériel qui peuvent l'endom-

mager, a reçu aujourd'hui une solution satisfaisante au point de vue technique, mais, comme nous l'avons déjà souvent répété, le côté économique ne peut pas être oublié. S'il y a des vins qui par leur grande qualité atteignent des prix élevés qui laissent sous-entendre l'utilisation d'appareils chers, n'oublions pas que leur économie n'est pas seulement liée au logement et au matériel, mais aussi au raisin, c'est-à-dire à tout le cycle de la production. Il faut souhaiter que d'une étroite collaboration entre la recherche, l'industrie, la viticulture et l'œnologie, naisse la solution idéale. Et nous sommes sûr qu'elle naîtra.

Résumé

L'auteur se réfère d'abord aux problèmes du revêtement et il analyse les caractéristiques essentielles que doivent présenter les surfaces en contact avec le vin ; il parle de l'innocuité toxicologique, de l'absence d'influence nuisible sur le vin, d'une étanchéité convenable, de la résistance à l'abrasion et au choc, du peu d'adhérence du bitartrate, de la résistance aux produits de lavage et de désinfection, de la durée, de l'adhérence aux parois, de l'élasticité et du prix.

Il passe en revue l'isolement de la futaille en bois, de la cuverie de ciment et des cuves métalliques. Il divise les produits de revêtement de la cuverie en ciment en deux groupes : produits qui réagissent avec les composants du ciment et matériaux inertes, et il analyse rapidement leurs qualités et défauts. Du premier groupe, il ne retient que l'acide tartrique et il parle des inconvénients que présentent les silicates et fluo-silicates ; du deuxième groupe il cite les revêtements asphaltiques et les résines plastiques et analogues. A ce propos il décrit une technique utilisée dans le revêtement de la cuverie en ciment dans les coopératives des Vins Verts (Vinhos Verdes).

Pour terminer il analyse le problème du revêtement des surfaces métalliques tant des cuves que de l'appareillage.

PRODUCTS FOR THE COATING OF SURFACES IN CONTACT WITH WINE

A. BARBEDO GALHANO

Summary

As a preliminary, the author refers to the problems of coating. He analyses the essential characteristics that any surface in contact with wine must have ; he talks about the following points : toxicolagical innoxiouness, absence of any harmful influence on wine, proper tightness, resistance to washing and disinfecting products, lasting quality, adherence to surfaces, elasticity and price.

He considers over the problem of insulation of wooden casks, of concrete vats and of those which are made of metal. He divides the products for the coating of concrete vats into two groups : products acting on the various components of concrete, and actionless products, and he gives a quick account of their good and bad qualities. Of the first group, he favors only tartaric acid and he mentions the disadvantages inherent in silicates and fluo-silicates ; on the second group, he mentions the asphaltic coatings, plastic resins and equivalents. Talking of this, he describes a technic used to cover the vats made on concrete in « Vinhos Verdes » cooperatives.

Finally he analyses the problem of coating of metallic surfaces of vats as well as of other equipment.

PRODUKTE ZUM SCHUTZ DER GEBINDE UND GERÄTE

A. BARBEDO GALHANO

Zusammenfassung

Der Autor gibt einen vorläufigen Überlick über die Probleme der Auskleidung und erläutert die wesentlichen Anforderungen welche die mit Wein in Berührung kommenden Oberflächen aufweisen müssen. Er spricht von der Unschädlichkeit auf den Wein, der Widerstandfähigkeit gegen Abreibung und Schlag, des geringen Haftens des Weinsteins, der Widerstandfähigkeit gegen Wasch- und Desinfektionsmittel, der Dauerhaftigkeit, der Elastizität und schliesslich vom Preis.

Er berichtet über die Auskleidung der Holzgebinde, der Zement-und Metallbehälter. Er teilt die Auskleidematerialien für Zementbehälter in zwei Gruppen, ein. Produkte, die mit den Bestandteilen des Zementes reagieren, und neutrale Produkte. Im Anschluss spricht er über die Qualität der Stoffe und führt ihre Vor- und Nachteile an. Von der erste Gruppe hält er nur die Weinsäure für

geeignet und spricht von den Unannehmlichkeiten, welche die Silikate und Fluorsilikate verursachen. Von der zweite Gruppe erwähnt er die Innenauskleidung mit asphaltartigen Stoffen, Kunstharzplastiken und Ähnlichem. Bei dieser Gelegenheit beschreibt er die Technik, die bei der Innenauskleidung der Zementbehälter in den Genossenschaften der Vinhos Verdes angewendet wurde.

Abschliessend bespricht er die Auskleidungsprobleme, die sich für die Metalloberfläche der Behälter und der Kellereigeräte ergeben.

PRODOTTI DI RIVESTIMENTO DEI RECIPIENTI E DEL MATERIALE

A. BARBEDO GALHANO

RIASSUNTO

L'autore fa un riferimento preliminare ai problemi di rivestimento ed analizza le caratteristiche essenziali che devono presentare le superfici in contatto col vino, parla dell'innocuità tossicologica, dell'assenza d'influenza nociva sul vino, di un conveniente isolamento, della resistenza all'abrasione ed all'urto, della debole aderenza del bitartrato, della resistenza ai prodotti di lavaggio e di disinfezione, della durata, dell'aderenza alle pareti, dell'elasticità e del prezzo.

Passa poi in rassegna l'isolamento delle botti in legno, delle vasche in cemento e dei vasi vinari in metallo. Divide i prodotti di rivestimento delle vasche in cemento in due gruppi : prodotti che reagiscono con i componenti del cemento e prodotti inerti ; e ne analizza rapidamente qualità e difetti. Del primo gruppo, riporta solamente l'acido tartarico e parla degli inconvenienti che presentano i silicati ed i fluo-silicati ; del secondo gruppo cita i rivestimenti asfaltici e le resine plastiche ed analoghe. A questo proposito descrive una tenica utilizzata nel rivestimento dei vasi in cemento nelle cooperative dei vini verdi (Vinhos Verdes).

Per terminare l'autore analizza il problema del rivestimento delle superfici metalliche tanto dei tini che del materiale enologico.

PRODUCTOS DE REVESTIMIENTO, DEL ALMACENAMIENTO Y DEL MATERIAL

A. BARBEDO GALHANO

RESUMEN

El autor hace una referencia previa a los problemas del revestimiento y analiza las caracteristicas esenciales que deben presentar las superficies en contacto con el vino ; habla de la inocuidad toxicológica, de la ausencia de influencia nociva sobre el vino, de un ajuste conveniente en los recipientes, de la resistencia a la abrasión y al choque, de la poca adhérencia al bitartrato, de la resistencia a los productos de lavado y de desinfección, de la duración, de la adhérencia en las paredes, de la elasticidad y del precio.

Pasa revista al aislamiento de las barricas de madera, de las cubas de cemento y de las cubas metálicas. Divide los productos de revestimiento de las cubas de cemento en dos grupos : productos que reaccionan con los componentes del cemento, y materiales inertes, y analiza rápidamente sus cualidades y defectos. Del primer grupo, sôlo acepta el ácido tártrico y habla de los inconvenientes que presentan los silicatos y fluosilicatos ; del segundo grupo, cita los revestimientos asfálticos y las resinas plásticas y análogas. A este respecto describe una técnica utilizada en el revestimiento de las cubas de cemento en las cooperativas de los Vinos Verdes.

Para terminar, analiza el problema del revestimiento de las superficies metálicas tanto de las cubas como de los aparatos.

INTERVENTION DE P. SUDRAUD

Station Agronomique et Œnologique de Bordeaux (France)

Produits de revêtement du logement et du matériel

Les essais de divers produits de revêtement du logement et du matériel vinaire effectués à la Station Agronomique et Œnologique de Bordeaux depuis une dizaine d'années peuvent nous permettre de dégager certains points importants de ce délicat problème.

Préparation du support. — Il est certain que le meilleur produit de revêtement ne doit s'appliquer que sur un support préparé spécialement pour le recevoir.

C'est ainsi que pour effectuer un revêtement sur métal les surfaces doivent être au préalable dégraissées et désoxydées le plus souvent par sablage. Les angles vifs doivent être éliminés et remplacés par des « congés » dont les rayons de courbure doivent être d'au moins 10 mm pour les angles rentrants et 5 mm pour les angles sortants. Les soudures doivent être soigneusement meulées.

Sur béton les surfaces doivent présenter un enduit très régulier, finement grenu et « taloché » sans angles vifs. En outre les revêtements ne peuvent s'appliquer que sur des parois bien sèches dont l'enduit est terminé depuis au moins trois mois.

Produits à déconseiller. — Bien que le problème de revêtement des cuves ne soit pas entièrement résolu de façon satisfaisante, il est bon d'éliminer certains revêtements pour leur mauvais comportement.

C'est le cas des silicates de sodium et de potassium qui n'isolent pas suffisamment la paroi de béton ; c'est également le cas du fluosilicate de magnésium qui, en plus d'une protection souvent insuffisante, provoque un enrichissement parfois important du vin ou du moût en fluor ; c'est le cas de certaines matières plastiques et de certains émaux contenant des doses plus ou moins importantes de plomb qui à la longue diffusent dans le liquide à leur contact ; c'est le cas de tous les produits de revêtement en solution dans un solvant organique qui risquent de communiquer un mauvais goût au vin par élimination incomplète du solvant.

Produits de revêtement récents. — Parmi les produits récents il faut signaler :

— Les caoutchoucs chlorés à base de caoutchouc synthétique appliqués en solution dans un solvant organique sous forme de peinture au pistolet.

— Les projections à chaud de matières plastiques fondues sans charge ni plastifiant et en particulier des produits de la série des polyuréthanes qui semblent intéressants.

— Les caoutchoucs de silicones ou élastomères silicones, vulcanisables à température ambiante, possédant une grande souplesse et une importante résistance au déchirement et à l'abrasion, applicables au pistolet, sont actuellement à l'étude et semblent très intéressants malgré un prix de revient élevé.

Produits de remplacement du métal et du ciment. — Pour remplacer le fer ou le cuivre dans le matériel vinaire on peut avec succès faire appel à l'acier inoxydable et plus particulièrement à l'acier 18/8 au molybdène (18 % de chrome, 8 % de nickel, 3 % de molybdène). Dans le cas des cuves de stockage, pour diminuer le prix de revient de tels récipients entièrement en acier inoxydable, les constructeurs ont envisagé la construction de cuves « bimétal » appelées parfois « cuves sandwichs » dans lesquelles une mince feuille d'acier inoxydable (1 mm d'épaisseur) recouvre intérieurement l'acier ordinaire (3 à 4 mm d'épaisseur). Récemment des constructeurs ont envisagé la fabrication de cuves en fibre de verre plastifiée. Enfin, en ce qui concerne les canalisations, le fer et le cuivre émaillés sont remplacés de plus en plus par l'acier inoxydable, la matière plastique ou même le verre.

RÉGLEMENTATION

RÉGLEMENTATION DES TRAITEMENTS DES VINS ET DES PRODUITS ŒNOLOGIQUES

P. JAULMES

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Montpellier (France)

N'étant pas juriste, ne faisant pas partie de l'administration de la Répression des Fraudes ou des Contributions indirectes, je me demande si vraiment j'ai quelque qualité pour dire quelques mots sur cet important sujet. Peut-être mes titres de pharmacien, de toxicologue et d'expert-chimiste des Tribunaux peuvent-ils être invoqués pour me permettre de vous parler de ce sujet. Les exigences de la santé publique ne doivent pas être perdues de vue lorsque l'on autorise un traitement physique ou chimique des vins, non seulement parce qu'il s'agit de ne pas utiliser de substances pouvant nuire si peu que ce soit à la santé, mais encore parce qu'il ne faut pas amoindrir la valeur alimentaire du vin par un traitement quelconque.

En France, comme en beaucoup d'autres pays, on ne peut employer que les traitements nommément autorisés dans une liste limitative. Toute inscription sur cette liste nécessite l'approbation des deux plus hautes autorités ayant compétence au sujet de la santé publique, à savoir l'Académie nationale de Médecine et le Conseil Supérieur d'Hygiène publique de France. C'est donc essentiellement le point de vue de la santé et d'hygiène qui commande l'adoption ou le refus de traitement des vins. On ne peut d'ailleurs laisser à un chacun le soin de décider si tel produit à telle dose est inoffensif ou non. Donc le principe des listes limitatives est absolument nécessaire.

Si maintenant nous avions la curiosité de comparer les réglementations concernant le traitement et l'élaboration des vins en vigueur dans les 46 pays viticoles du monde, nous constaterions des différences considérables et très surprenantes.

La variété des climats peut expliquer une partie de ces différences, comme l'a bien montré M. RAKCSANYI dans un rapport très intéressant présenté à la Session de l'O.I.V., à Budapest en 1961. Dans la région septentrionale de la culture de la vigne, le sucrage et la désadicification sont pratiques courantes, tandis que dans les régions méridionales, le sucrage est interdit et l'acidification des moûts est pratiquée.

L'Office International du Vin se préoccupe de susciter l'unification de ces réglementations. L'importance croissante des échanges internationaux dans des zones unifiées au point de vue commercial rend indispensable cette unification. Il est, en effet, peu admissible que le commerce international des vins soit libre entre deux pays où le sucrage est interdit dans l'un et autorisé dans l'autre ; ce serait encourager la production de vin de sucre au détriment de la qualité et des intérêts légitimes des

viticulteurs honnêtes. L'O.I.V. a déjà réussi l'unification internationale de l'appellation des vins spéciaux et l'unification des méthodes d'analyse des vins. A ce dernier point de vue, il réunit annuellement une sous-commission qui compare et choisit les méthodes à adopter, qui remet à jour les méthodes antérieures, grâce à une procédure simple. Ces réunions suscitent un grand intérêt puisque 17 nations et 7 grandes organisations internationales y envoient des délégués.

Il y a un mois, à peine, cette Sous-Commission a adopté un projet de Codex des produits œnologiques établi par le groupe des 4 experts de l'O.I.V. C'est un premier pas vers l'unification de la réglementation.

Je parlerai donc surtout de la question de ce Codex, puisque il est déjà acquis.

Il convient de bien préciser la portée et le cadre de cet ouvrage.

1° L'inscription d'un produit chimique ou naturel à ce Codex n'implique nullement que ce produit est licite dans tous les pays adhérents à l'O.I.V. Sont en effet inscriptibles à ce Codex, tous les produits qui sont licites dans un au moins ou plusieurs pays adhérents à l'O.I.V. Mais cette inscription n'entraîne aucune obligation pour les autres pays, l'autorisation d'emploi relevant uniquement des juridictions nationales.

2° L'inscription au Codex a seulement pour but de définir une qualité de produit. Pour avoir droit à l'appellation « conforme au Codex œnologique » ce produit doit présenter un certain minimum de pureté et d'efficacité.

3° Pour le moment, l'emploi d'un produit de qualité Codex n'est même pas obligatoire, tant qu'un règlement — national — ne l'a pas imposé.

Le Codex ne fait que définir une qualité, il n'indique aucun procédé d'emploi ni aucune dose maximale ou minimale à utiliser. Il n'indique pas davantage, dans quel but, pour corriger quel défaut, pour prévenir quelle maladie, l'emploi de ce produit est indiqué.

Peut-être direz-vous que toutes ces restrictions en limitent beaucoup la portée et l'intérêt. Mais je vous répondrai que les rédacteurs de ce texte n'ont aucun pouvoir pour légiférer et que même s'ils avaient eu un tel pouvoir, ils se seraient bien gardés d'en user, car il faut être prudent, et avancer pas à pas en attendant les résultats de cette première tentative et les réactions des divers utilisateurs pour aller plus avant.

Ce Codex comprend trois grandes parties :

a) une partie principale comportant l'étude des différents produits inscrits suivant le plan que j'indiquerai dans un instant.

b) La description d'un certain nombre de techniques analytiques utilisées pour les essais.

c) La liste et la composition des réactifs et solutions utilisés pour ces essais et ces dosages.

a — L'étude d'un produit comporte toujours la définition de ce produit par son nom, ses synonymes, sa formule chimique, lorsqu'il s'agit d'un produit chimique ; ou par son nom, son origine, son mode de préparation lorsqu'il s'agit d'un produit naturel tel que bentonite, gélatine, charbon décolorant, etc.

La monographie comporte ensuite une courte description des propriétés physiques, avec l'indication des principales solubilités à 20 °C exprimées en grammes

de solvant pour un gramme de produit. Ensuite figurent des caractères d'identité où sont décrites quelques réactions chimiques faciles à exécuter pour caractériser le produit et cela pour éviter les conséquences graves des erreurs d'étiquetage.

La partie principale de chaque monographie comporte un nombre plus ou moins grand d'essais auxquels doit répondre la substance : teneur limite en humidité, teneur en cendres, teneur en fer, métaux lourds, arsenic, chlorures, sulfates, etc...

Les métaux lourds : plomb, cuivre, mercure, sont toujours limités à moins de 20 mg par kg, de manière que l'apport éventuel maximal au vin soit toujours largement inférieur à 20 millièmes de mg par litre de vin, ce qui est négligeable vis-à-vis des teneurs naturelles du vin en ces métaux.

L'arsenic est limité selon les produits entre 2 et 4 mg par kg. Cette limitation élimine tous les produits dits techniques, c'est-à-dire préparés sans préoccupation d'absence d'impureté toxique. Pour les teneurs en fer, nous avons été un peu plus larges car ce métal n'est pas toxique ; nous nous sommes seulement préoccupé de ne pas introduire de fer à dose capable de provoquer une casse ferrique. Le fer est généralement limité à 400 mg par kg ce qui se traduira tout au plus par un apport de 0,4 mg par litre de vin, les produits chimiques étant presque toujours employés à dose inférieure au gramme par litre.

Pour le calcium et le magnésium nous avons dû, plusieurs fois, être encore plus larges, puisque le vin naturel contient toujours beaucoup plus de calcium et de magnésium que de fer.

Pour les chlorures et sulfates, nous pouvions être encore plus larges, ces anions étant dépourvus de toute toxicité ou d'effets fâcheux sur le tenue du vin. Ces éléments sont pourtant limités à moins de 1 pour 1000.

Pour les produits chimiques, un ou plusieurs dosages ont été prescrits pour en définir le minimum de teneur en anions et cations utiles. Du même coup sont éliminées toutes les impuretés à dose importante qui n'ont pas été recherchées par les essais de sensibilité limitée.

Pour les produits naturels ou non chimiquement définis comme bentonite, charbon décolorant, acide métatartrique, gélatine, kaolin, des essais d'efficacité ont été indiqués qui permettent d'en chiffrer l'activité.

Je tiens à préciser que l'ensemble des caractères et de ces essais constitue un tout et qu'on n'a pas le droit d'en faire une partie seulement sans risque d'erreur.

J'avais eu, une fois, à faire l'essai d'un sulfate de magnésium qui avait provoqué des symptômes assez dramatiques bien que non mortels chez une personne qui voulait se purger. Ce sel répondait à tous les caractères indiqués au Codex pharmaceutique de 1937 sauf au dernier, grâce auquel je découvris du zinc.

Ce produit avait été, en effet, accidentellement mélangé avec le tiers de son poids de sulfate de zinc. La dose du sulfate de zinc ingérée était proche de la dose mortelle, mais l'action purgative du sulfate de magnésium avait sauvé le malade.

Les erreurs d'étiquetage, les mélanges de sels divers, sont plus fréquents en droguerie qu'on ne l'imagine. J'en ai moi-même été, en quelque sorte, la victime une dizaine de fois depuis les quelque 35 ans que je fais de la chimie. Tout récemment encore un flacon étiqueté « acide citrique » était de l'acide tartrique. Je me souviens d'une affaire qui fit un mort et dix intoxiqués graves dans laquelle de l'arséniate de sodium fut ajouté à une barrique de vin au lieu de métabisulfite. Il serait beaucoup trop long de vous raconter toutes mes mésaventures personnelles ou les cas d'intoxications d'une origine semblable dont j'ai eu à m'occuper en tant qu'expert.

Cette partie du Codex comporte les monographies des produits suivants :

Phosphate d'ammonium, bentonites, phytate de calcium, charbon animal purifié, charbon activé, acide citrique, diatomite lavée, gomme arabique, kaolin, acide métatartrique, anhydrosulfite de potassium, sorbate de potassium, chlorure de sodium, sulfure de sodium, acide sorbique, tanin, acide tartrique.

Ultérieurement seront rédigées les monographies sur les substances ci-après : albumines d'œuf et de sang, alginate, acide ascorbique, chlorure et sulfate d'ammonium, anhydride sulfureux, azote, caséine, carbonate de calcium, cellulose et amiante pour filtre, colle de poisson, farine de moutarde, ferrocyanure de potassium, gaz carbonique, gélatine, oxygène, sang desséché, soufre, terre d'Espagne, etc.

Une autre rubrique sera nécessaire d'ailleurs dans cet ouvrage. Elle comportera l'essai des peintures, enduits, mastics, matières plastiques et métaux au contact desquels le vin peut se trouver pendant le stockage, les manipulations de transport. Ce chapitre est évidemment très important et il nécessitera des travaux assez longs et la collaboration des industriels qui fabriquent ces métaux, peintures, matières plastiques, etc.

J'ai oublié de dire que la rédaction des monographies sur les produits ci-dessus indiqués a été vérifiée au laboratoire sur des produits œnologiques commercialisés en France ou en Europe par de bonnes Maisons de produits œnologiques et que ces monographies ont été soumises à la critique du groupement professionnel des fabricants de ces produits.

b — Les méthodes d'analyses qui sont réunies dans la deuxième partie de ce Codex œnologique ont été en grande partie empruntées au projet du futur Codex pharmaceutique français, mais un certain nombre de ces méthodes ont été modifiées en vue d'en améliorer encore la technique. Les dosages prévus dans cette partie sont les suivants : déterminations des cendres sulfuriques, de l'azote total, de l'arsenic, de l'indice de brome, et les essais limites pour les métaux lourds, les chlorures et les sulfates.

Dans la partie *c* nous avons indiqué la composition des 76 réactifs spéciaux dont l'emploi est nécessaire pour les essais prescrits par les monographies ou pour les méthodes d'analyses. Toutefois le mode de préparation des solutions titrées banales de l'analyse volumétrique : solutions de soude, d'acides, d'iode, de thiosulfate n'y sont pas mentionnées. On les trouve, en effet, dans le plus élémentaire des traités d'analyse.

Cet ouvrage constitue donc une première tentative qui devra être complétée dans les plus brefs délais. Elle rendra immédiatement des services car l'emploi d'un produit conforme à ce Codex met les utilisateurs à l'abri non seulement d'accidents toxiques pour les consommateurs, mais encore et surtout, parce que cela est beaucoup plus fréquent, d'accidents œnologiques dus aux impuretés. Par exemple un viticulteur colle son vin rouge à la gélatine pour le clarifier ; il emploie une colle à la gélatine, qui trop hydrolysée laisse des résidus de polypeptides qui précipiteront peu à peu ultérieurement. Pour enlever ces produits il traite son vin à la bentonite, mais celle-ci laisse du fer et du calcium. Pour éviter la casse et la précipitation de tartrate de calcium il ajoute de l'acide citrique et de l'acide métatartrique, etc.

En filtrant à l'aide de terre d'infusoires, on risque un apport de fer et de calcium ; si celle-ci est impure, il faudra un autre traitement pour en éviter les mauvais effets, etc.

Le cycle peut même se fermer indéfiniment.

Il n'était donc pas inutile de préciser la pureté et l'efficacité de ces produits. Cette œuvre peut et doit certainement être encore perfectionnée et améliorée. On n'arrive pas à la perfection d'un seul coup.

Remarquons que pour le moment l'emploi exclusif de ces produits Codex n'est pas obligatoire, mais il est souhaitable qu'il le devienne. Il ne peut le devenir que par un Décret ou un Arrêté par les mêmes autorités administratives qui autorisent l'emploi des traitements et produits et j'en arrive ainsi à la deuxième partie de mon propos la réglementation et l'uniformisation internationale des traitements licites des vins.

Le rapport de M. RAKCSANYI et le tableau dressé par l'O.I.V. de comparaison des Codes du vin des divers pays œnologiques constituent le point de départ d'une révision des diverses législations. En ce qui concerne la France cette révision s'impose.

En effet les articles 1 à 9 de notre Code du Vin ont été constitués en réunissant tous les décrets, arrêtés et circulaires qui ont été pris durant les 70 dernières années au sujet des autorisations d'emploi de procédés et d'additifs. Un certain nombre de pratiques et produits sont tombés en désuétude tels que le plâtre, le glycérophosphate d'ammonium et ils pourraient, sans inconvénients, être supprimés. Certains articles présentent même un certain degré de contradiction. Avec plusieurs collègues et les Services de la Répression des Fraudes nous pensons que la refonte de ces textes doit être entreprise pour en assurer une rédaction plus logique, plus précise et donner aux œnologues les moyens d'agir pour assurer l'élaboration des meilleurs vins possible et leur conservation.

Tout d'abord nous déclarons avec notre collègue FLANZY qu'il vaudrait évidemment mieux ne rien ajouter au vin, pour lui conserver ses qualités de vin naturel. Nous respectons ce principe excellent, mais c'est la nature elle-même qui manque de fidélité. Une année l'été est froid et pluvieux et les raisins ne mûrissent pas, il faudrait pouvoir enlever la verdeur du vin. Une autre année une attaque de mildiou a donné des vins anormaux, riches en tanin et extrait sec, ou bien un été chaud et humide donne des vins à faible acidité, qui ne peuvent se conserver au-delà des mois d'hiver.

Il faut pouvoir corriger ces défauts dus aux intempéries. Bien plus et comme le disait le Professeur RIBÉREAU-GAYON : un vin entièrement naturel — où l'homme n'est pas du tout intervenu, ne serait le plus souvent qu'un mauvais vinaigre !

Il faut aussi corriger les défauts apportés par l'homme ! Les machines, appareils, cuves, pompes, robinets, etc. cèdent des métaux en quantités plus ou moins élevées au vin. Cela est bien regrettable, car il serait bien préférable d'éviter ces souillures indésirables et qui nuisent à la qualité ; mais ces défauts existent et on ne peut reconstruire la plupart des caves en quelques jours.

Il faut donc disposer de pratiques licites de traitements physique et mécanique : filtration, centrifugation, réfrigération ou pasteurisation, et de produits inoffensifs à ajouter aux vins. Le terme d'additifs ne convient d'ailleurs pas à tous ces produits : le charbon, les colles, les argiles clarifiantes, le phytate, le sulfure de sodium, même le ferrocyanure correctement utilisé ne restent pas dans le vin s'ils sont de bonne qualité et ils n'ont qu'une action momentanée — physique ou chimique. Tous les autres produits autorisés — de vrais additifs, ceux qui sont finalement absorbés par le consommateur — sont totalement inoffensifs : acide tartrique, acide citrique, gomme arabique, acide sorbique, tanin, sont des produits naturels ou existant dans la nature, issus de la vigne ou d'autres plantes non toxiques.

Seuls le phosphate d'ammonium, le métabisulfite, l'anhydride sulfureux sont des produits chimiques non extraits d'une plante comestible. L'anhydride sulfureux

est le seul produit dont les hygiénistes ne peuvent affirmer l'innocuité totale ; malheureusement c'est peut être le seul produit dont il paraît encore impossible de se passer. L'opportunité de l'emploi du phosphate d'ammonium comme activateur de la fermentation alcoolique est très discutée à cause de l'apport d'ions phosphoriques certes non toxiques, mais favorisant la casse blanche et nombre d'œnologues préfèrent le chlorure, le sulfate ou le carbonate d'ammonium comme apport ammoniacal.

On peut s'étonner que l'emploi des gaz inertes ne soit pas mentionné parmi les produits licites en France. Pourquoi l'azote que produit économiquement l'industrie moderne n'est-il pas employé pour éviter l'oxydation du vin en vidange et pendant la filtration, les soutirages ?

Pourquoi le gaz carbonique, le vin naît dans le gaz carbonique, n'est-il licite qu'en Allemagne, en Suisse et quelques autres pays et pas encore en France pour les vins ordinaires? Avec ce corps on aurait le moyen d'éviter les oxydations prématurées du vin avec plus d'efficacité encore que par l'azote car ce gaz est dense et a moins de tendance à s'échapper que l'azote. On conserverait beaucoup plus longtemps une certaine jeunesse et du fruité au vin blanc. On éviterait l'emploi de doses excessives d'anhydride sulfureux et empêcherait la surcharge du vin en sulfate provenant de l'oxydation progressive de cet anhydride. Pourquoi se priver du bénéfice de ce gaz inerte et isolant pour le vin ? M. Flanzy en a bien montré l'intérêt en vinification dans sa macération carbonique.

Cet exemple montre que notre législation a besoin d'être assouplie et rajeunie. Il ne faut pas qu'elle soit une entrave au progrès en œnologie ou même plus simplement à une œnologie plus rationnelle et plus efficace.

Etant français, je ne critiquerai que la législation française et je m'abstiendrai de porter un jugement public sur les diverses législations étrangères, ne voulant fâcher personne, mais je n'en pense pas moins.

On ne comprend pas en effet pourquoi elles sont aussi dissemblables. Ce qui est inoffensif en France serait-il nocif en d'autres pays et inversement ?

C'est pourquoi il faut encourager l'O.I.V. à poursuivre son œuvre d'unification mise en chantier à Budapest. Ce travail est à l'ordre du jour de la Session d'Israël et nous pourrions certainement émettre un vœu dans ce sens dès aujourd'hui. Le temps manque pour entrer dans le détail des discussions sur les différents produits et traitements œnologiques souhaités ou à proscrire, ce n'est pas en une heure ni même en une journée qu'on arrivera à épuiser un tel sujet pour lequel le concours d'œnologues, de chimistes et surtout d'hygiénistes est absolument nécessaire. Il faut de plus prendre le temps de la réflexion car le temps ne pardonne pas à ce qui a été fait sans lui.

Il faut qu'un premier texte soit rédigé par 4 ou 5 experts, puis soumis à un symposium international, qui préparera un texte qui sera soumis à tous les pays pour examen approfondi et critique. Grâce à ces critiques on pourra alors dans une autre réunion internationale, rédiger un texte à peu près définitif qui sera encore renvoyé aux pays et ce n'est que par cette procédure compliquée qu'on pourra arriver à un texte sérieusement établi, bien motivé et accepté par tous. C'est ainsi que nous avons opéré pour les méthodes d'analyse — nous avons mis 12 ans et le problème à résoudre était moins difficile...

Il nous faudra encore beaucoup de ténacité et de patience pour arriver à un résultat positif pour cette œuvre si souhaitable, mais patience et ténacité ne manquent pas aux hommes de la vigne et du vin.

Résumé

Les réglementations concernant l'élaboration et le traitement des vins en vigueur dans les 46 pays viticoles du monde sont très différentes. La variété des climats ne suffit pas à expliquer ces différences dont quelques-unes sont peu justifiées. L'importance croissante du commerce international dans les zones unifiées au point de vue commercial rend souhaitable l'unification de ces réglementations. L'Office International du Vin qui a déjà réussi l'unification des appellations des vins spéciaux, et des méthodes d'analyse des vins, porte maintenant ses efforts à cette uniformisation. En particulier un projet de Codex des produits œnologiques est en cours de rédaction. Il comporte actuellement des monographies sur les produits suivants : phosphate d'ammonium, bentonite, phytate de calcium, noir animal purifié, charbon activé, acide citrique, diatomite, gélatine, gomme arabique, kaolin, acide métatartrique, anhydrosulfite de potassium, sorbate de potassium, chlorure de sodium, sulfure de sodium, acide sorbique, tanin, acide tartrique.

Chacune d'elle comporte la description du produit, l'indication de quelques caractères d'identité et des essais définissant le degré de pureté requise. Pour les produits naturels non définis chimiquement, une méthode de mesure de l'efficacité s'y trouve indiquée. La santé publique bénéficiera de cette réglementation ainsi que la qualité des vins.

Des monographies sur les produits suivants sont en cours de rédaction : albumine d'œuf, albumine de sang, alginates, anhydride sulfureux, azote, caséine, cellulose pour filtres, colle de poisson, farine de moutarde non déshuilée, ferrocyanure de potassium, gaz carbonique, oxygène, sang desséché, soufre et mèches et composition pour méchage.

L'essai des peintures, enduits, matières plastiques et métaux complétera ce Codex. Il comporte de plus un chapitre sur les méthodes analytiques et sur la composition des réactifs utilisés pour le contrôle, de manière à ce que cet ouvrage se suffise à lui-même.

L'unification des pratiques licites que peut subir le vin nécessitera encore de nombreuses discussions internationales. Mais on peut espérer que grâce en particulier à l'activité de l'O.I.V. ou à des réunions telles que ce Symposium elle sera réalisée en peu d'années. L'auteur souhaite qu'à partir des exposés présentés à ce Symposium, puissent être définis les traitements souhaitables et ceux qui doivent être abandonnés ou interdits en tenant essentiellement compte des intérêts de la santé des consommateurs et de la valeur nutritive des vins traités.

REGULATIONS FOR THE TREATMENTS OF WINES AND ŒNOLOGICAL PRODUCTS

P. JAULMES

Summary

Regulations concerned in the making and the treatments of wines used in the 46 wine growing countries of the world are very different. Climatic variations don't suffice to explain these differences some of which have but little justification. The growing importance of international trade in unified market zones calls for a standardization of the regulations. The O.I.V., having succeeded in the standardization of the appellations of special wines and in the standardization of analytical methods for wine, endeavours now making this standardization. A project of an Œnological Products Codex is now being drawing up. The following monographs are now drawn up : ammonium phosphate, bentonite, calcium phytate, purified animal charcoal, activated coal, citric acid, diatomite, gelatin, arabic gum, kaolin, metatartaric acid, potassium anhydrosulfite, potassium sorbate, sodium chloride, sodium sulfide, sorbic acid, tannin and tartaric acid.

Each one involves the description of the product, the indication of some identifying characteristics and tries for a definition of the required purity. A method for measuring the efficacy of chemically unidentified natural products is included. Public Health, as well as the quality of wine, will benefit from these regulations.

Monographs on the following products will soon follow : egg albumin, blood albumin, alginates, sulfur dioxide, nitrogen, casein, celluloses for filtration, fish glue, oil-unremoved mustard flour, potassium ferrocyanide, carbon dioxide, oxygen, dried blood, sulfur in wick formulations.

Testing of paints, coatings, plastics and metals will complete this Codex. It also involves one chapter on analytical methods and gives the composition of the reagents used for control in order that this book be sufficient by itself.

The standardization of lawful treatments of wine will still require numerous international discussions. But it's hoped that owing to the activity of the O.I.V. and to meetings similar to this Symposium it will be achieved in a few years. The author wishes that, from the reports presented in this Symposium, some resolutions be adopted in order to define the desirable treatments and those that have to be given up or forbiden. These resolutions should take into account the interest of consumers' health and the nutritive value of the treated wines.

REGELUNG ÜBER DIE WEINBEHANDLUNG UND DIE WEINBEHANDLUNGSMITTEL

P. JAULMES

ZUSAMMENFASSUNG

Die gesetzlichen Bestimmungen bezüglich der Erzeugung und Behandlung von Weinen sind in den 46 Weinbauländern der Welt sehr unterschiedlich. Die Verschiedenheit des Klimas reicht nicht aus, um diese Unterschiede zu erklären, von denen einige wenig gerechtfertigt sind. Die zunehmende Bedeutung des internationalen Handels in den vereinheitlichten Wirtschaftsgebieten macht die Vereinheitlichung dieser gesetzlichen Bestimmungen wünschenswert. Das internationale « Office du Vin », das schon erfolgreich die Vereinheitlichung über die Benennung von Spezialweinen und die Weinuntersuchungsmethoden eingeführt hat, richtet seine Bemühungen auch auf diese Vereinheitlichung. So ist ein Entwurf über einen Codex der Weinbehandlungsmittel in Ausarbeitung. Er umfasst derzeit Abhandlungen über folgende Produkte : Amoniumphosphat, Bentonit, Kalziumphytat, gereinigte Tierkohle, Aktivkohle, Zitronensäure, Kieselgur, Gelatine, arabischen Gummi, Kaolin, Metaweinsäure, Kaliumpyrosulfit, Kaliumsorbat, Natriumchlorid, Natriumsulfid, Sorbinsäure Tannin, Weinsäure. Diese umfasst eine Beschreibung des Produktes, Angaben einiger kennzeichnender Merkmale und Vorschläge über den erforderlichen Reinheitsgrad. Für die natürlichen Produkte, die nicht chemisch definiert sind, ist eine Methode zur Messung ihrer Wirksamkeit angegeben. Diese Regelung wird für das öffentliche Gesundheitswesen sowie für die Qualität des Weines von gleichem Nutzen sein. Abhandlungen über folgende Produkte befinden sich in Ausarbeitung : Eieralbumin, Blutalbumin, Alginate, Schwefelige Säure, Stickstoff, Kasein, Filterzelullose, Hausenblase, nicht entöltes Senfmehl, Kaliumferrozyanid, Kohlensäure, Sauerstoff, getrocknetes Blut, Schwefel und Schwefelschnitten.

Untersuchungen über Farben, Dichtungsmittel, Kunststoffe und Metalle werden diesen Codex vervollständigen. Er enthält ausserdem ein Kapitel über die Analysenmethoden und die Zusammensetzung der für die Kontrolle erforderlichen Reagenzien, so dass dieses Werk sich selbst genügt. Die Vereinheitlichung der für den Wein zulässigen Verfahren macht noch zahlreiche internationale Diskussionen notwendig. Aber man kann hoffen, dass sie dank der besonderen Aktivität des O.I.V. und solcher Tagungen, wie das derzeitige Symposium, in wenigen Jahren verwirklicht sein wird. Der Autor wünscht, dass ausgehend von den Ausführungen dieses Symposiums eine gewisse Anzahl von Vorschlägen angenommen wird, um die erwünschten und zu verbietenden Behandlungsmethoden aufzuzählen, wobei hauptsächlich die Interessen der Gesundheit des Konsumenten und der Bekömmlichkeit der behandelten Weine zu berücksichtigen wären.

REGOLAMENTAZIONE DEI TRATTAMENTI AI VINI E DEI PRODOTTI ENOLOGICI

P. JAULMES

RIASSUNTO

Le disposizioni riguardanti l'elaborazione ed i trattamenti dei vini in vigore nei 46 paesi viticoli del mondo sono molto differenti. La varietà dei climi non basta per spiegare queste differenze, alcune delle quali sono poco giustificate. L'importanza crescente del commercio internazionale nelle zone commercialmente unificate rende desiderabile l'unificazione di queste disposizioni. L'Ufficio Internazionale del Vino che è grià riuscito ad unificare i nomi dei vini speciali e dei loro metodi di analisi volge i suoi sforzi a questa uniformazione. In particolare un Codice dei prodotti enologici è in corso di redazione. Contiene presentemente delle monografie sui prodotti seguenti : fosfato ammonico, bentonite, fitato di calcio, nero animale purificato, carbone attivo, acido citrico, diatomite, gelatina, gomma arabica, caolino, acido metatartarico, solfito di potassio anidro, sorbato di potassio, cloruro di sodio, solfuro di sodio, acido sorbico, tannino, acido tartarico.

Ognuna di tali monografie contiene la descrizione del prodotto, l'indicazione di alcuni dei saggi che definiscono i caratteri d'identità e il grado di purezza richiesto. Per i prodotti naturali non definiti chimicamente, un metodo di misura dell'efficacia si trova accennato. La salute pubblica si gioverà di questa regolamentazione e cosi pure la qualità dei vini.

Monografie sui prodotti seguenti sono in corso di redazione : albumina di uovo, albumina di sangue, alginati, anidride solforosa, azoto, caseina, cellulosa per filtri, colla di pesce, farina di senapa non disoleata, ferrocianuro di potassio, anidride carbonica, ossigeno, sangue disseccato, solfo, miccie e preparazioni per solforare.

La prova delle pitture, spalmati, materie plastiche e metalli completerà questo Codice, ove si trova anche un capitolo sui metodi analitici e sulla composizione dei reagenti impiegati per il controllo ; l'opera sarà in tal modo sufficiente allo scopo.

L'unificazione delle pratiche alle quali sarà lecito sottoporre il vino richiederà ancora numerose discussioni internazionali. Ma si puô sperare che, grazie all'attività dell'O.I.V. in particolare e di riunioni come questo Symposium, sarà raggiunta in pochi anni tale unificazione.

L'autore auspica che quanto è stato esposto in questo Symposium consenta di esprimere alcuni voti allo scopo di definire i trattamenti desiderabili e quelli che devono essere abbandonati o proibiti, tenendo essenzialmente conto della salute dei consumatori e del valore nutritivo dei vini trattati.

REGLAMENTACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS DE VINOS Y DE LOS PRODUCTOS ENOLOGICOS

P. JAULMES

RESUMEN

Las reglamentaciones concerniendo la elaboración y el tratamiento de los vinos en vigencia en los 46 paises viticolas del mundo son muy diferentes.

La variedad de climas no basta para explicar esas diferencias algunas de las cuales son poco justificadas. La importancia creciente del comercio internacional en zonas unificadas desde el punto de vista comercial rinde deseable la unificación de esas reglamentaciones. El Office Internacional del Vino que ha ya llegado a hacer la unificacion de apelaciónes de vinos especiales y de metodos de análisis de vinos, lleva ahora sus esfuerzos a esta normalización.

En particular un proyecto de Codex de productos enologicos esta en curso de redacción. Comprende actualmente monografias sobre los productos siguientes : fosfato de amonio, bentonita, fitato de calcio, negro animal purificado, carbon activado, acido citrico, diatomita, gelatina, goma arabiga, caolin, acido metatartárico, sulfito de potasio anhidro, sorbato de potasio, cloruro de sodio, sulfuro de sodio, acido sorbico, tanino. acido tartarico.

Cada una de ellas comprende la descripción del producto, la indicación de algunos caracteros de identidad y de los ensayos definiendo el grado de pureza requerida. Para los productos naturales no definidos quimicamente, un metodo de medida de la eficacia se encuentra indicado. La salud publica se beneficiara de esta reglamentacion asi como la cualidad de los vinos.

Monografias sobre los productos siguientes estan en curso de redacción : albumina de huevo, albumina de sangre, alginatos, anhidrido sulfuroso, nitrógeno, caseina, celulosa para filtros, cola de pescado, harina de mostaza no desaceitada, ferrocianuro de potasio, gas carbónico, oxigeno, sangre desecada, azufre y mechas y composicion para hacer mechas.

El ensayo de pinturas, revestimientos, materias plasticas y metales completara este Codex. Comprende ademas un capitulo sobre los metodos analiticos y sobre la composicion de reactivos utilizados para el control de manera que esta obra se baste a ella misma.

La unificación de practicas licitas que puede recebir el vino necesitara todavia numerosas discusiones internacionales. Pero podemos esperar que gracias en particular a la actividad del O.I.V. o a reuniones como este simposio, sera realizada en pocos años. El autor desea que a partir de los expuestos presentados a este simposio un cierto numero de votos sean adoptados para definir los tratamientos deseables y aquellos que deben estar abandonados o prohibidos teniendo esencialmente en cuenta los intereses de la salud de los consumidores y del valor nutritivo de los vinos tratados.

SÉANCE DE CLÔTURE

DISCOURS DE CLÔTURE

L. CINCINNATO DA COSTA

Professeur à l'Institut supérieur d'Agronomie,
Université technique de Lisbonne (Portugal)

Monsieur le Président,

Mesdames et Messieurs,

Encore à l'enfance de ma formation professionnelle, car j'avais alors à peine 28 ans, j'ai eu le plaisir et le grand honneur de participer aux travaux du 1er Congrès international de la Vigne et du Vin, qui s'est tenu à Bordeaux du 21 au 24 juin 1928, en ma qualité de délégué officiel du Gouvernement portugais. Je crois bien être le seul étranger ici présent qui peut vous parler de cette glorieuse manifestation scientifique viti-vinicole, maintenant que tous les autres participants sont malheureusement déjà disparus. Je me permets d'attirer votre attention sur ce fait, parce que, à mon avis, il explique la raison pour laquelle le digne Président du Comité d'Organisation de ce Symposium a bien voulu me charger de vous adresser quelques mots en cette séance de clôture. Ne fut cette raison, le choix serait tombé sur d'autres personnalités du monde œnologique moderne, sans doute plus compétentes que moi-même et plus liées à l'œuvre d'un des plus grands savants de la France et de toute l'Humanité.

Chers Collègues,

Nous nous trouvons ici trente-cinq ans après le Congrès de Bordeaux. Ce congrès, qui s'occupa aussi des études concernant le pin maritime et ses produits technologiques — une autre importante richesse de cette si belle région agricole — avait été organisé par le Syndicat des Ingénieurs-Chimistes du Sud-Ouest et par l'Association des Anciens Elèves de l'Ecole de Chimie de Bordeaux. Etant donné l'importance des rapports et des communications qui y ont été présentés et l'excellente collaboration des corps scientifiques, des organisations professionnelles et des personnalités si qualifiées qui ont participé à ces travaux, ce congrès peut être considéré comme le point de départ des autres congrès spécialisés de la vigne et du vin, qui jusqu'à nos jours, sous l'égide de l'Office International du Vin, portent aux Gouvernements des pays vinicoles intéressés une forte et solide contribution à la défense du vin et à l'amélioration constante de sa qualité. Il a ouvert la série des grandes manifestations viti-vinicoles mondiales, qui se déroulent encore et se poursuivront toujours, car il s'agit de mieux connaître et de mieux protéger un des produits les plus nobles de nos terroirs.

En même temps, ce Congrès a célébré le cinquantenaire de l'admirable découverte de la bouillie bordelaise, par MILLARDET et GAYON, rendant un juste hommage à ces éminents savants qui ont recommandé l'application pratique des sels de cuivre pour le traitement du vignoble contre les ravages du mildiou, terrible fléau, qui au début du dernier quart du XIXe siècle venait de causer en Europe d'énormes pertes.

On a honoré alors ceux qui grâce à de patientes recherches, poursuivies avec le plus grand succès, ont su apporter à la viticulture mondiale un moyen efficace pour la défense de la production, moyen encore nécessaire partout où ce cryptogame parasite trouve des conditions favorables à son développement. Il est certain que leur extraordinaire découverte a sauvé de la ruine des milliers de viticulteurs, elle a permis de maintenir la richesse et la prospérité du monde vinicole ; « l'humanité entière doit à ces deux savants de pouvoir vivre plus économiquement, avec plus de confort. »

N'oublions pas qu'un des inventeurs de cette formule consacrée par l'usage, fut directeur de l'Ecole de Chimie de Bordeaux et de la Station œnologique qu'il a fondée et qu'il était le grand-père du Professeur Jean RIBÉREAU-GAYON, actuel directeur de la même Station, président du Comité d'organisation de ce Symposium.

Deux dates qui ne s'effaceront jamais de l'histoire de la viticulture et de l'œnologie et qui seront toujours l'orgueil du pays qui a eu la gloire de compter dans ses institutions scientifiques de si hautes personnalités, pour résoudre des problèmes si importants et d'une indiscutable projection sur le plan international.

Deux dates que nous retiendrons toujours, car s'il semble y avoir un passé qui s'éloigne très vite, il n'est pas moins vrai qu'en matière scientifique les résultats acquis sont plus durables. Nous sommes à l'heure où l'on doit se rendre compte de l'importance énorme du travail des savants et des techniciens qui ont la pénible, mais passionnante tâche, d'étudier les meilleures solutions pour résoudre des questions difficiles et les amener à un niveau de progrès.

Chers Collègues,

Il y a quelque chose de semblable dans ces deux génies. Ulysse GAYON, par son extraordinaire découverte, a sauvegardé le vignoble d'un grand péril, car comme on le sait bien, le mildiou est toujours une cause d'appréhension et d'incertitude pour la viticulture. Louis PASTEUR, qui a été son maître, par ses inoubliables recherches biologiques, intéressant surtout les microbes et les fermentations, a créé un nouveau climat scientifique. Il a pu expliquer tant de phénomènes jusque là considérés comme de vrais mystères et découvrir, à la fois, la meilleure façon de guérir une Humanité souffrante et d'améliorer les méthodes d'élaboration du vin et d'autres produits nécessaires à notre alimentation.

Les théories de ces savants nous ont ouvert une large route de progrès et ce fut à leur exemple que tant d'autres chercheurs dans le siècle écoulé, profitant de leurs magnifiques leçons, nous ont apporté aussi une solide contribution à la solution des problèmes qui touchent la viticulture et la science du vin, la plus noble et la plus recommandable de toutes nos boissons.

On peut dire que la Providence, grande maîtresse de la vie, s'est chargée de joindre dans l'espace et dans le temps deux pionniers du progrès viticole et œnologique, qui ont donné aux jeunes générations de chercheurs un admirable exemple de labeur persévérant et de pleine confiance dans les méthodes de travail.

En ce qui concerne le vin, qui retient maintenant notre attention, les études de PASTEUR ont abouti à des résultats éclatants. S'opposant aux anciennes doctrines de plusieurs savants, quant aux véritables causes de la transformation des produits organiques et s'appuyant sur ses théories de la dissymétrie moléculaire, il lui fut possible de démontrer qu'il existe une relation intime et directe entre les micro-organismes et les fermentations et que la nature de celles-ci dépend toujours des propriétés spécifiques des ferments responsables.

Il a reconnu, par la suite, l'existence réelle dans le vin d'une sorte d'état de vie, transmise par les nombreuses espèces des infiniment petits apportés par les raisins. Dès lors, le vin a conquis la gloire d'un être vivant, qui vient au monde dans les cuves de fermentation, par la bienfaisante intervention de ces mystérieux micro-organismes qui transforment le moût. Le vin se développe ensuite dans les tonneaux, où ses composants atteignent un parfait état d'équilibre et une stabilité convenable. C'est le moment de le mettre en bouteille, où il vit encore et grandit toujours jusqu'à sa pleine maturité, celle-ci dépendant de la qualité des récoltes et des caractéristiques des crus. C'est le moment de le boire ! Puis le vin vieillit, comme nous-mêmes, et perd lentement ses excellentes propriétés, il se dépouille et il meurt ! Mais, parce qu'il a vécu, il nous laisse les meilleurs souvenirs.

C'est le triomphe de la biologie du vin et de la science œnologique, que de nous éclairer sur cette évolution. Avec PASTEUR, le vin est devenu un produit alimentaire plus riche et plus noble, parce que de son origine il possède quelque chose de naturel, qui dépasse le pouvoir de l'homme. Il est vraiment un don de la Providence et possède des vertus et des propriétés intrinsèques que l'on doit respecter à tout prix.

L'œnologie a là une grande tâche à accomplir, car il faut surtout que le vin maintienne toujours ses qualités naturelles, pour qu'il plaise d'abord au consommateur et pour le sauvegarder de toute concurrence déloyale. C'est ce qui résulte des leçons de PASTEUR, qui dans le vaste domaine de la microbiologie, a étudié les causes de la production de bons vins et aussi les causes de leurs altérations et maladies, qu'il nous a appris à prévenir et à guérir.

Sa technique de chauffage des vins, comme moyen de sélectionner la flore microbienne la plus convenable, plus connue sous le nom de pasteurisation, méthode dont le temps n'amoindrit pas la valeur, est bien un exemple de son désir de dominer et de conduire les infiniment petits ; ils sont les seuls capables d'engendrer le vin et de lui donner les qualités nécessaires à une bonne conservation, à partir d'une composition normale des moûts.

L'école de PASTEUR se projette jusqu'à nos jours. Elle a un siècle. Mais nous savons qu'elle ne vieillira jamais, tant sont solides les fondements établis par son auteur. Elle repose sur un fait naturel : la vie du vin et pour cette raison elle servira toujours de base aux nouvelles recherches. Après PASTEUR, ses élèves et d'autres générations plus jeunes ont accepté sa doctrine et suivi son exemple, ce qui assure le succès de leurs recherches dans le domaine de l'œnologie.

Chers Collègues,

La victoire de PASTEUR a en quelque sorte ses reflets sur la réussite que vous venez d'obtenir avec la réalisation de ce Symposium. De ses « *Etudes sur le vin. Ses maladies; causes qui les provoquent. Procédés nouveaux pour le conserver et pour le vieillir* », qui ont été commencés en 1863 et furent publiées en première édition en 1866, et dont je suis fier de posséder un exemplaire, le Comité d'Organisation a

très sagement choisi comme thème général de nos travaux un chapitre des plus intéressants de l'œnologie moderne, à savoir : « *Procédés nouveaux de conservation des vins : théorie, pratique, réglementation* », et il a chargé les chercheurs d'aujourd'hui de nous apporter des communications sur les différentes questions.

Titres très semblables, cela signifie que le problème maintient encore toute son importance et cela justifie que les œnologues du monde entier soient appelés à en trouver des solutions convenables, selon les techniques les plus récentes, et les plus appropriées, en accord avec les exigences du consommateur, sans oublier que le vin, la plus noble, « la plus saine et la plus hygiénique des boissons », doit rester toujours un produit naturel et loyal. PASTEUR a bien connu les exigences humaines et cette connaissance est sans doute, selon EDISON, la plus importante de toutes les sciences. Voilà la leçon de PASTEUR dont nous devons savoir profiter.

Chers Collègues,

Je viens de dire que le Comité d'Organisation a très bien choisi les questions qui ont été portées à l'ordre du jour. Les chapitres du programme : *Stabilisation biologique des vins*, *Prévention des effets de l'oxygène*, *Limpidité et problèmes de clarifications*, *Préventions des troubles et dépôts*, *Réglementation*, montrent la grande importance de ce Symposium et de ses conclusions pour la préparation des bons vins, des vins de qualité ayant droit, comme les vins de Bordeaux et tant d'autres, au titre de noblesse de « vins à appellation d'origine ».

Comme vous le savez, je viens d'un pays où il y a aussi de belles couronnes vinicoles, de vrais joyaux, consommés dans le monde entier — tels le PORTO et le MADÈRE. — Eux aussi provenant de terroirs bénis par Dieu, sont constamment améliorés par la ténacité et la volonté des hommes.

Je comprends à cause de cela l'importance considérable de vos institutions scientifiques et de vos stations de recherches, où les chercheurs se penchent avec persévérance sur les problèmes qui préoccupent les vignerons et le commerce des vins.

Nous aussi avons profité de ces admirables leçons ; nous avons pu mieux connaître nos vins au point de vue biologique, ce qui nous a permis de conduire les vinifications selon les méthodes les plus convenables. Nous nous rendons compte de la projection universelle de l'œuvre de PASTEUR, œuvre qui naquit française, mais appartient aujourd'hui au monde œnologique, qui à juste titre s'enorgueillit de pouvoir la posséder.

Et nous sommes saisis de l'effort et de l'enthousiasme de ceux qui travaillent à la Station agronomique et œnologique de Bordeaux où une équipe de chercheurs se dédie, il y a longtemps, aux études sur le vin, cherchant à déceler tous ses constituants, nombre d'entre eux encore inconnus, et l'influence qu'ils ont sur l'équilibre et la qualité du produit. Ils poursuivent ces recherches à l'image de leur Maître spirituel et par les résultats obtenus jusqu'ici, il nous est permis d'ores et déjà de conclure que leurs études aboutiront à un plein succès.

Entre tous, nous voulons rendre hommage de très spéciale et profonde admiration au digne Directeur de cette Station œnologique, le Professeur M. Jean RIBÉREAU-GAYON, docteur « honoris causa » de l'Université Technique de Lisbonne, qui est également le président du Comité d'Organisation de ce Symposium, et encore à son vice-président, M. Emile PEYNAUD, le Chef éminent du Service des Recherches à la même Station, qui par sa haute compétence et par son prestige a été l'âme de l'organisation scientifique de nos travaux. Tous les deux collaborent depuis 35 années

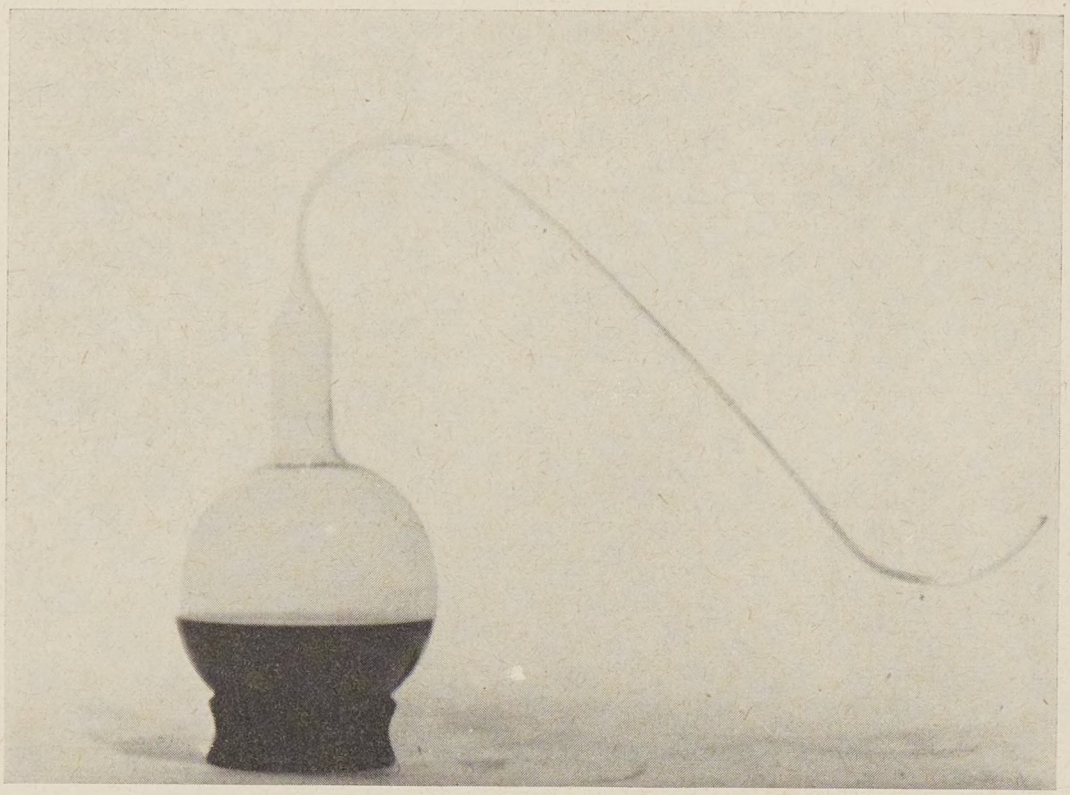
et on leur doit en majeure partie le grand succès de cette réunion scientifique. Je suis certain d'interpréter les sentiments de vous tous en leur adressant nos plus vifs remerciements pour tout ce qu'ils viennent de faire, remerciements qui s'adressent également aux autres chercheurs et experts de la même Station.

Et je crois encore qu'il y a lieu de remercier très chaleureusement les rapporteurs, qui nous ont confié des études d'un grand intérêt scientifique, contenant des données actuelles très précieuses pour toutes les régions viticoles du monde.

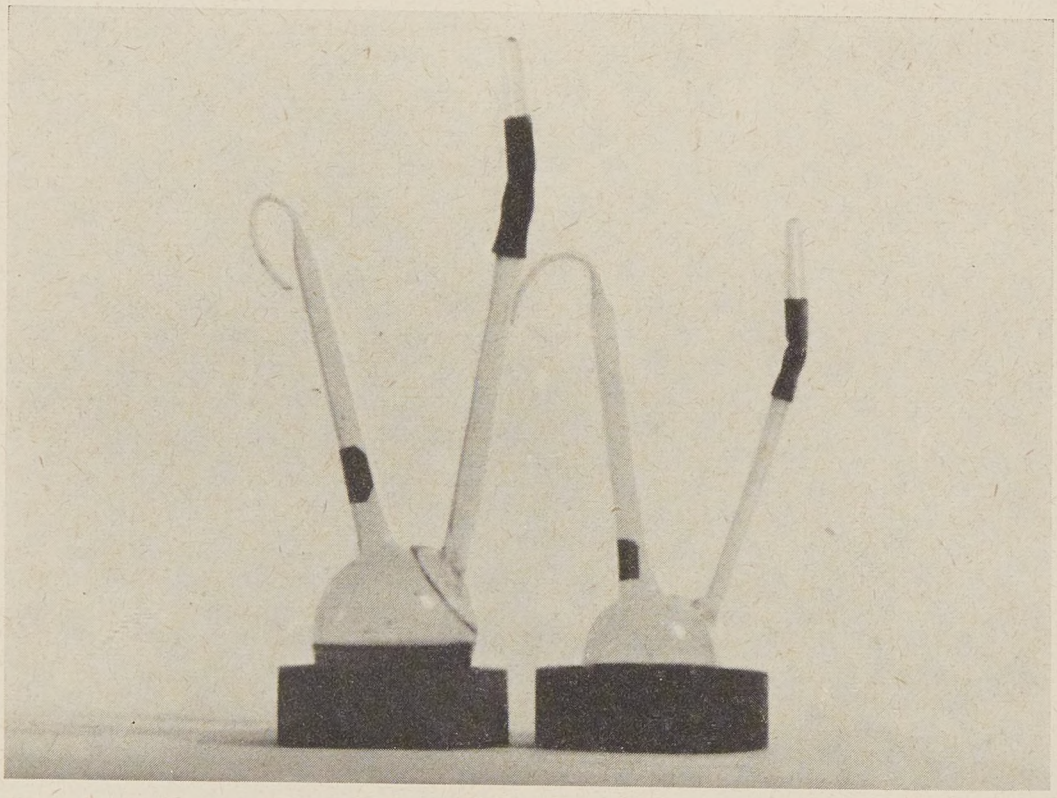
Pour terminer, permettez-moi de dire ma satisfaction personnelle pour avoir eu l'honneur de participer à ce Symposium à côté des grands savants du monde œnologique, car cette collaboration intime et féconde plaît toujours à ceux qui ont le privilège de se trouver sur le même chemin. Et parce que cette compagnie nous est, à tous, particulièrement agréable, en ajoutant les leçons d'aujourd'hui à celles de ces prédestinés qui après leur mort nous laissent la lumière de leurs travaux, retenons très vive la mémoire de PASTEUR et cherchons à suivre son exemple, car, comme l'a dit FÉNELON « l'aliment de l'âme, c'est la vérité et la justice ».

Voilà, chers Amis, l'expression finale d'une si grande leçon.

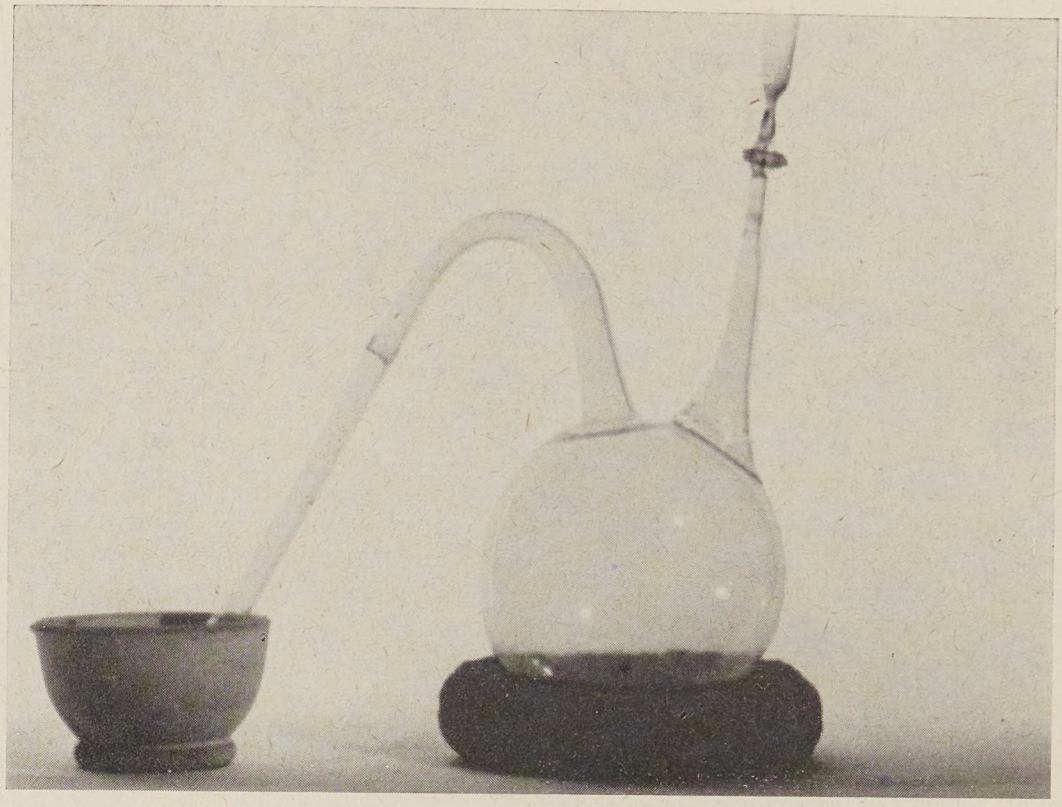
Photographies des pièces du Musée Pasteur relatives à l'étude des fermentations et du vin



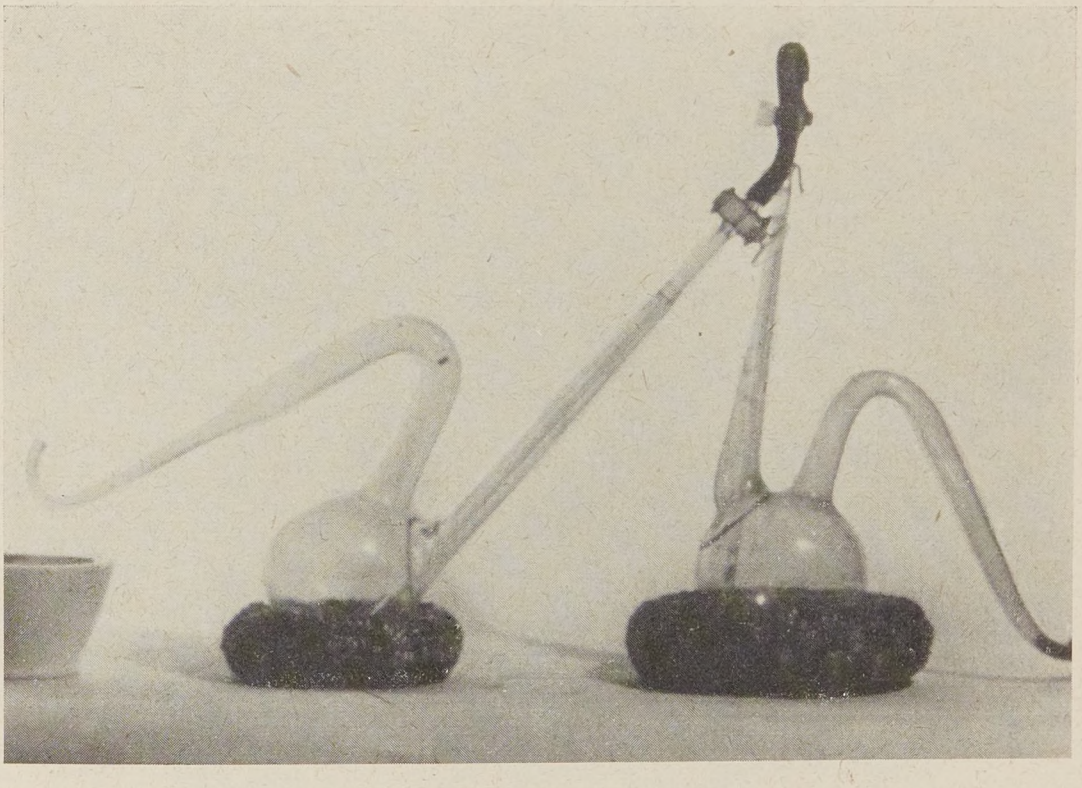
Ballon de Pasteur avec col de cygne pour l'étude de la fermentation alcoolique.



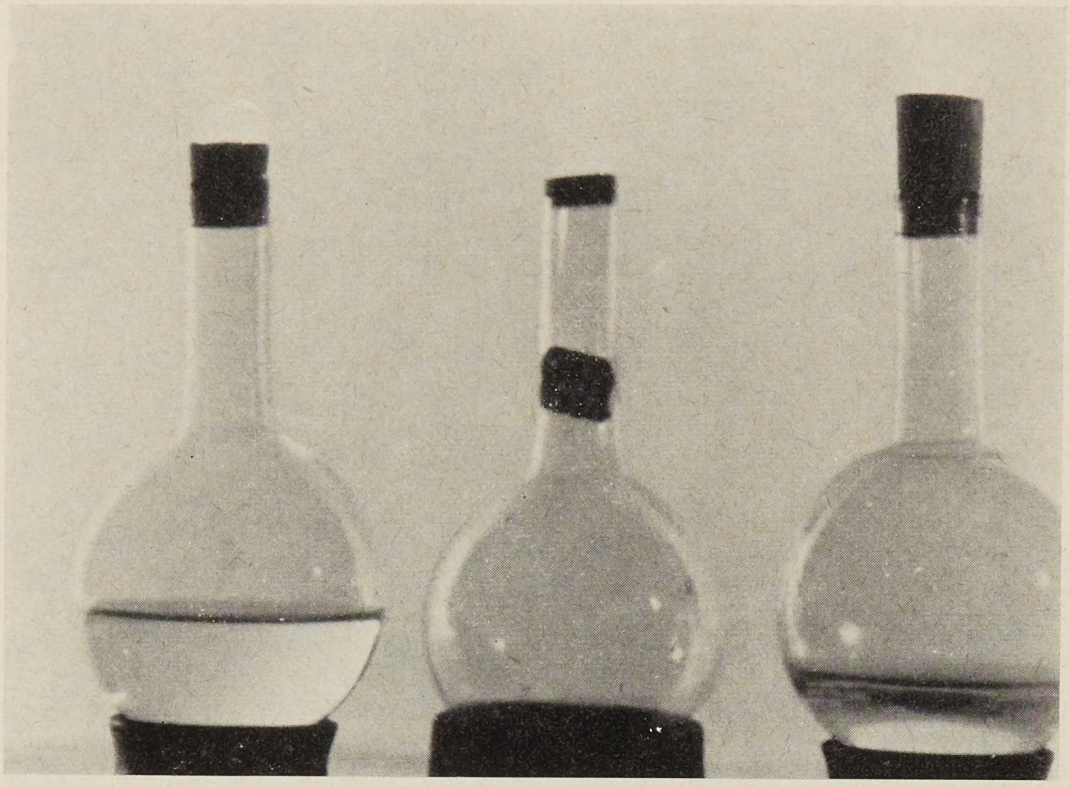
Ballons de Pasteur à deux cols.



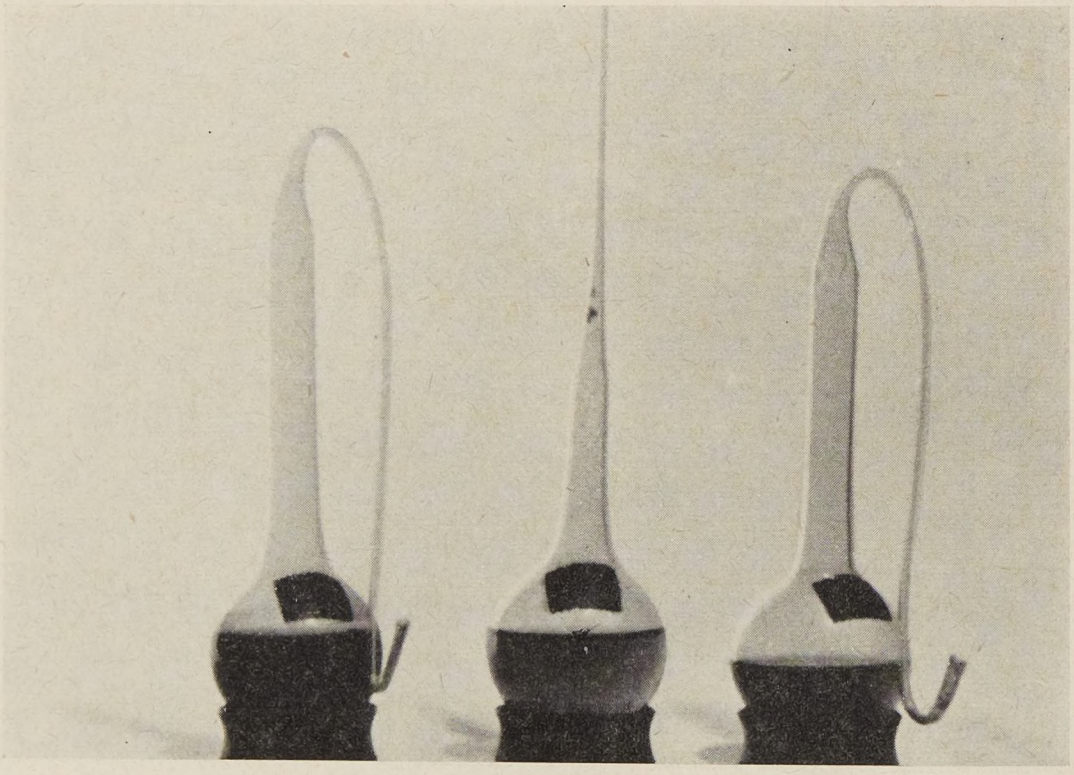
Dispositif pour l'ensemencement d'un moût de bière à l'abri de l'oxygène.



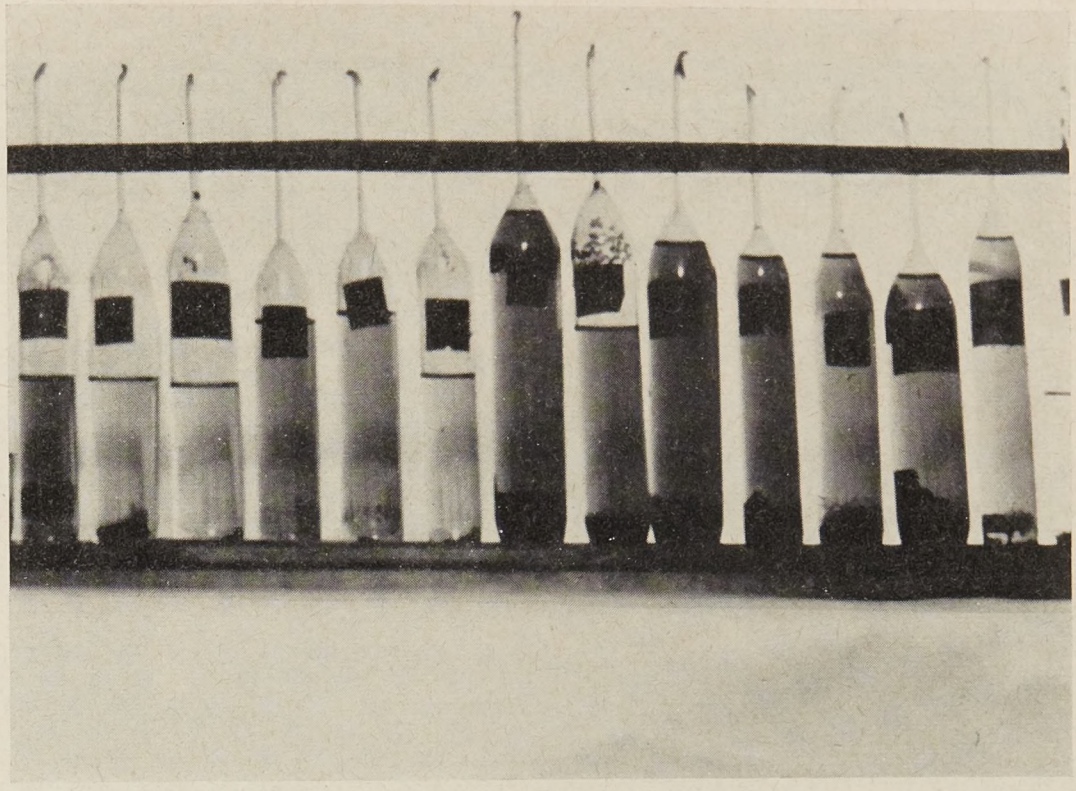
Deux ballons à double col permettant d'ensemencer sucessivement deux fermentations en anaérobiose.



Ballons contenant du jus d'oignon chauffé ou non chauffé (dans le second les bactéries lactiques se développent et non les levures ; il y a spécificité de l'action antimicrobienne).

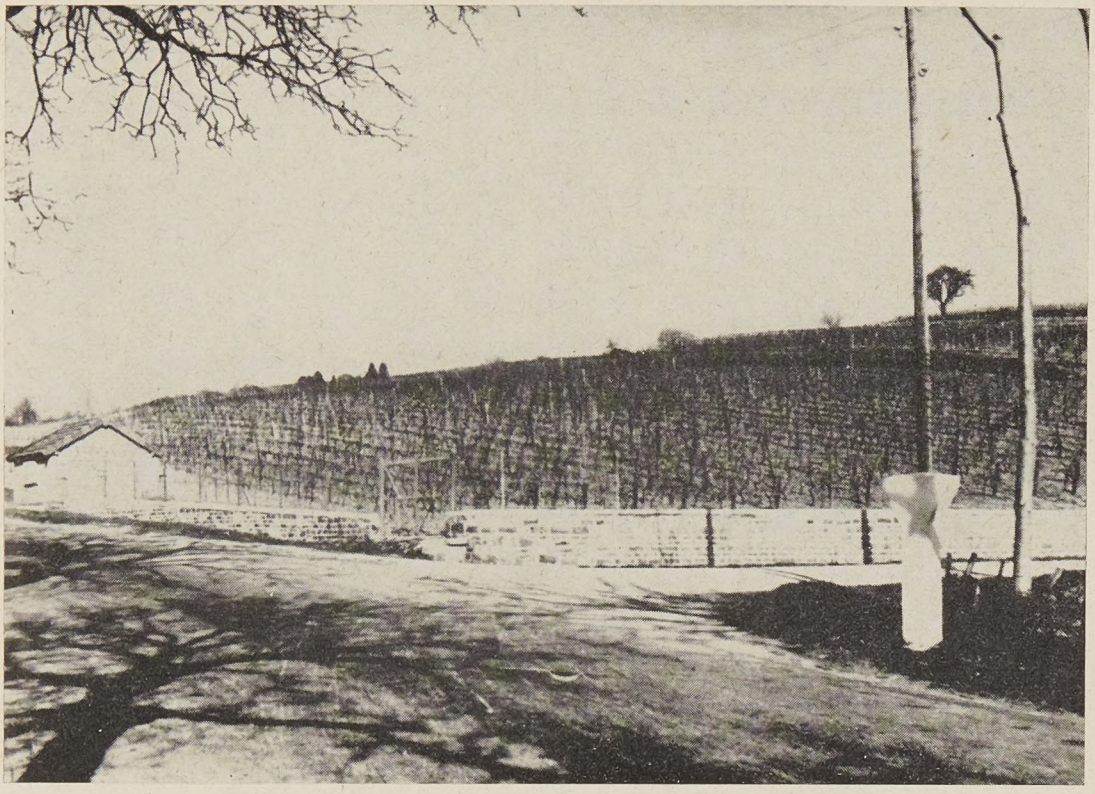


Milieux de culture de Pasteur (moût de bière, moût de raisin, eau de levure additionnée de 5 % de glucose).



Etude sur le vieillissement des vins à l'air et à l'abri de l'air.

Pasteurisateur à bouteilles utilisé par Pasteur.



La vigne de Pasteur à Arbois (Jura)

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION

Comité d'honneur 5
Comité d'organisation 6

SÉANCE D'OUVERTURE

Discours d'ouverture, G. DALMASSO 9
L'actualité de Pasteur, J. RIBÉREAU-GAYON 13
Présidents de Séance 24

STABILISATION BIOLOGIQUE DES VINS

Contaminations microbiennes des vins. Mesures préventives. Hygiène, R. LAMBION 27
Résumés 41
Discussion 43
Travaux récents sur la fermentation malolactique, J.C.M. FORNACHON 45
Résumés 54
Discussion 56
Intervention de M. SILVA BABO 57
Intervention de P. BIDAN 59
Intervention de E. PEYNAUD, Mlle DOMERCQ et G. GUIMBERTEAU 60
Conditions du développement des bactéries acétiques et mesures préventives dans la conservation des vins, P. DUPUY et J. MAUGENET 63
Résumés 71
Discussion 73
Intervention de Mmes JAKUBOWSKA et PIATKIEWICZ 74
Etat et action de l'acide sulfureux dans les vins, E. KIELHÖFER 77
Résumés 90
Intervention de J. ARES-PONS 93
Intervention de J. BLOUIN 97
Emploi de l'acide sorbique dans la conservation des vins, E. PEYNAUD 99
Résumés 112
Discussion 114

Emploi du pyrocarbonate d'éthyle dans le traitement des vins, K. HENNIG 115
Résumés 122
Discussion 124
Intervention de E. KIELHÖFER 125
Intervention de L. GENEVOIS 127
Intervention de H. VALAIZE 128
Stabilisation biologique des vins par chauffage, P. SUDRAUD 131
Résumés 139
Intervention de L. BAILLOT D'ESTIVAUX 141
Possibilité d'utilisation des radiations dans la conservation des vins, R. PAUNOVIC 143
Résumés 151
Intervention de P. DUPUY 154
Intervention de R. MOUTON 155

PRÉVENTION DES EFFETS DE L'OXYGÈNE

Protection des vins de l'oxydation par l'emploi de l'acide sulfureux et de l'acide ascorbique, F. PRILLINGER 159
Résumés 167
Sur la teneur des vins en réductones naturelles et leur influence, F. PAUL 171
Résumés 177
Discussion 178
Intervention de G. BRISSON-MEYTON 179
Phénomènes d'oxydo-réduction en relation avec les problèmes de la conservation et de la limpidité, I. MARECA CORTÉS 181
Résumés 190
Discussion 192

LIMPIDITÉ ET PROBLÈMES DE CLARIFICATION

Travaux sur les colloïdes des vins en relation avec les problèmes de la limpidité, L. USSEGLIO-TOMASSET 195
Résumés 203
La filtration des vins. Filtration avec alluvionnage continu et filtration sur plaques stérilisantes, W. GEISS 205
Résumés 214
Discussion 217
Propriétés clarifiantes des enzymes pectolytiques, G. MARTEAU 218
Résumés 230
Discussion 234
Intervention de H. VALAIZE 235

Essais de tenue et dépistage des possibilités de troubles : L. LÉGLISE 237
Résumés 242
Discussion 244

PRÉVENTION DES TROUBLES ET DÉPÔTS

Stabilisation des anthocyanes. Comportement de la couleur des vins rouges, H.W. BERG 247
Résumés 258
Intervention de C. CANTARELLI 260
Intervention de J. BERGERET 262
Intervention de P. RIBÉREAU-GAYON 264
Troubles métalliques des vins et leurs traitements, H. RENTSCHLER 267
Résumés 273
Intervention de R. CORDONNIER 277
Traitement des vins par le ferrocyanure de potassium, C. TARANTOLA 279
Résumés 289
Discussion 292
Intervention de J. RIBÉREAU-GAYON 293
Protéines des vins blancs. Traitements des précipitations protéiques par chauffage et à l'aide de la bentonite, J. KOCH 297
Résumés 311
Discussion 313
Prévention des troubles protéiques du vin par l'emploi de bentonite dans le moût, D. MILISAVLJEVIC 315
Résumés 328
Discussion 330
Emploi du froid dans le traitement des vins, R. CASSIGNARD 331
Résumés 339
Discussion 341
Prévention des précipitations tartriques, C. CANTARELLI 343
Résumés 357
Intervention de P. PECHEUR 360
Intervention de P. F. CHENARD 362
Clarification et stabilisation des vins de Champagne, P. GEOFFROY 365
Résumés 375
Discussion 378
Problèmes de la stabilisation du vin de Porto, M. PACHECO DE AZEVEDO 379
Résumés 389
Discussion 391

Produits de revêtement du logement et du matériel, A. BARBEDO GALHANO .. 393
Résumés 401
Intervention de P. SUDRAUD 403

RÉGLEMENTATION

Réglementation des traitements des vins et des produits œnologiques, P. JAULMES 407
Résumés 413

SÉANCE DE CLÔTURE

Discours de clôture, L. CINCINNATO DA COSTA 419
Photographies des pièces du Musée Pasteur relatives à l'étude des fermentations et du vin 425

Édité par
l'INSTITUT NATIONAL de la RECHERCHE
AGRONOMIQUE
149, rue de Grenelle
PARIS VIIe

Imprimé en France — Vesoul - Imprimerie Marcel BON D. L. Imp. N° 1044-I-1964